

Poul Aabel Østergaard

Betydningen af nedsat
immunglobulin A dannelse
for udviklingen
af adenotonsillitis og/eller
astma bronchiale hos børn

With an english summary

Odense 1979

Aalborg 1979

Forsvaret finder sted fredag d. 1. juni kl. 14.00 prc. i
Mikrobiologisk Instituts auditorium, J.B. Winsløvsvej,
Odense Sygehus.

Poul Aabel Østergaard

Betydningen af nedsat
immunglobulin A dannelse
for udviklingen
af adenotonsillitis og/eller
astma bronchiale hos børn

With an english summary

Aalborg 1979

Denne afhandling er i forbindelse med omstående tidligere publicerede afhandlinger af det lægevidenskabelige fakultet ved Odense Universitet antaget til offentligt at forsvares for den medicinske doktorgrad.

Odense den 27. marts 1979.

Lars Garby
dekan.



Nærværende oversigt bygger på følgende 8 publicerede arbejder:

- I. P.Aa. Østergaard: Presence of immunoglobulin-containing plasma cells in tonsils from tonsillectomized children. Acta path. microbiol. scand. Sect. C, 83: 406-412, 1975.
- II. P.Aa. Østergaard: IgA levels and carrier rate of haemophilus influenzae and beta-haemolytic streptococci in children undergoing tonsillectomy. Acta path. microbiol. scand. Sect. C, 84: 290-298, 1976.
- III. P.Aa. Østergaard: IgA levels and carrier rate of pathogenic bacteria in 27 previously tonsillectomized children. Acta path. microbiol. scand. Sect. C, 85: 178-186, 1977a.
- IV. P.Aa. Østergaard: IgA levels, bacterial carrier rate, and the development of bronchial asthma in children. Acta path. microbiol. scand. Sect. C, 85: 187-195, 1977b.
- V. P.Aa. Østergaard: B- and T-cells and intracellular Ig-synthesis of peripheral lymphocytes in children with asthma and/or previous adeno-tonsillectomy. Acta path. microbiol. scand. Sect. C, 85: 454-462, 1977c.
- VI. P.Aa. Østergaard & J. Eriksen: B- and T-cells and Ig-containing blast cells in healthy children. Acta path. microbiol. scand. Sect. C, 85: 395-397, 1977.
- VII. P.Aa. Østergaard & M. Blom: Whole saliva immunoglobulin levels in 60 healthy children: Determined by a sensitive electroimmuno technique after prior carbamylation. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 15: 393-396, 1977.
- VIII. P.Aa. Østergaard & M. Blom: IgA i serum og blandingsspyt bestemt med en sensitiv elektroimmunoteknik. Ugeskr. Læg. 140: 967-971, 1978.

FORORD

De undersøgelser, der ligger til grund for denne afhandling, er hovedsagelig udført ved mine ansættelser dels ved øreafdelingen dels ved børneafdelingen, Aalborg Sygehus.

Det var især overlæge Chr. Hansted, Børneafdelingen i Aalborg, der vakte min interesse for den mulige rolle, det pharynxassocierede, lymfoide væv spiller for det lokale immunforsvar hos børn, og denne har siden støttet mig med inspirerende kritik samt gode arbejdsforhold ved afdelingen til færdiggørelse af nærværende arbejde.

Overlæge J.W. Paulsen, tidligere øreafdelingen, Aalborg Sygehus, takkes for velvillig tilladelse til at undersøge tonsillitispatienter indlagte på denne afdeling, og overlæge E. Sommer Hansen, patologisk institut, Århus Kommunehospital, takkes for beredvillig hjælp ved indførelse i immunofluorescens-teknik.

I arbejdets tidlige faser har jeg modtaget stor støtte af overlæge W. Frederiksen, tidligere Seruminstitutets regionalafdeling i Aalborg. Denne har med sin store viden om bakteriologiske emner og sin positive kritik ved tolkningen af de bakteriologiske fund hos patienterne været mig til uvurderlig hjælp. Ligeledes vil jeg gerne rette en tak til overlæge dr. med. E. Kjems, Streptococafdelingen, Statens Seruminstitut, København, der har været mig behjælpelig med AST og ASH bestemmelser i serum hos tonsillitispatienter og kontrolbørn i dette arbejde.

Prosektor dr. med. H. Olesen, patologisk institut, Aalborg Sygehus, takkes for frie arbejdsforhold og laboranthjælp ved mit arbejde ved institutet. En særlig hjælp gennem årene har jeg modtaget af overlæge dr. med. Per Påby, klinisk-ke-misk afdeling, Aalborg Sygehus, afsnit Syd, der fra starten stillede laboratoriefaciliteter og laboranthjælp til min rådighed og bestandigt støttede mig med inspirerende kritik og udbytterige samtaler i de forskellige faser af arbejdets tilrettelæggelse.

I arbejdets senere faser har jeg modtaget megen hjælp i form af laboratoriefaciliteter og laboranthjælp af nu afdøde

overlæge dr. med. Kaj Gert Jensen og overlæge Anne Lundsgaard, blodbanken, Aalborg Sygehus. Jeg vil desuden gerne takke læge Grethe Sønderstrup, vævstypelaboratoriet, Rigshospitalet, for hendes hjælp vedrørende indføring i teknikken til bedømmelse af immunglobulinbærende lymfocytter i perifert blod.

To af arbejderne er udført i samarbejde med overlæge M. Blom, tidligere klinisk-kemisk afdeling, Aalborg Sygehus, afsnit Syd, og dette samarbejde har været overordentlig væsentligt og inspirerende for mig. Ligeledes takkes læge J. Eriksen, blodbanken, Aalborg Sygehus, for samarbejdet vedrørende bestemmelse af T-celler i perifert blod.

En varm tak skal rettes til skolelæge K.E. Sørensen, Aalborg, der med utrættelig omhu hjalp mig med at udvælge det store antal af raske kontrolbørn, der indgik i flere faser af undersøgelserne i dette arbejde.

En særlig tak vil jeg ligeledes gerne rette til histolaborant Esther Schwartz, hospitalslaborant Jonna Møller og vævstypelaboranterne Anne Elbæk, Inge Teil og Tove Svendsen, der alle med veludført arbejde og aldrig svigtende akkurate og flid har bistået mig i laboratoriarbejdet. Endelig vil jeg gerne takke sekretær Hanne McDonald for kritisk revision af det engelske resume'.

Jeg har under arbejdets forskellige faser modtaget økonomisk støtte fra Forskningsfonden for Nordjyllands Amt samt fra Statens Lægevidenskabelige Forskningsfond.

Aalborg, April 1979

Poul Aabel Østergaard

INDHOLDSFORTEGNELSE

INTRODUKTION	1
KAPITEL I	3
<u>IMMUNOFLUORESCENSUNDERSØGELSER AF LYMFØJDT VÆV</u>	3
KAPITEL II	5
<u>IMMUNGLOBULINBESTEMMELSER I SERUM OG BLANDINGSSPYT</u>	5
KAPITEL III	8
<u>B- OG T-CELLESUBPOPULATIONER I PERIFERT BLOD</u>	8
A. THYMUSAFHÆNGIGE-(T-) CELLER	8
B. BURSAAFHÆNGIGE-(B-) LYMFOCYTTER	10
KAPITEL IV	12
<u>IMMUNGLOBULINSYNTETISKE AF PERIFERE LYMFOCYTTER IN VITRO</u> ..	12
KAPITEL V	14
<u>BAKTERIOLOGISKE UNDERSØGELSER</u>	14
KAPITEL VI	15
<u>INTRODUKTION AF EGNE PATIENTER</u>	15
A. TONSILLITIS PATIENTER	15
B. PATIENTER MED ASTMA BRONCHIALE	17

KAPITEL VII	17
<u>RESULTATERNE AF DE KLINISKE, BAKTERIOLOGISKE OG IMMUNO-</u> <u>LOGISKE UNDERSØGELSER</u>	17
A. PATIENTER MED TONSILLITIS CHRONICA ET RECIDIVANS	18
1. Resultaterne af egne immunhistokemiske undersøgelser af tonsilvæv	20
2. Resultaterne af immunglobulinundersøgelser i serum og blandingsspyt	20
3. Korrelationen mellem bakterievækst fra patienternes tonsiller og resultaterne af immunglobulinfundene i tonsilvæv, serum og blandingsspyt	21
4. Efterundersøgelser af de yngre tonsillitispatienter ...	24
5. Tonsillerne som "eksternt" eller "internt" lymfoide organer	26
B. PATIENTER MED ASTMA BRONCHIALE	27
1. Indledning	27
2. IgA, IgM og IgE ved astma bronchiale	28
3. IgA, IgM og IgE og tendens til luftvejsinfektioner hos børn med astma bronchiale	30
4. Neutrofil granulocytfunktion og allergisk sygdom	31
5. Lav IgA- og høj IgE produktion samt T-celle dysfunk- tion hos allergiske patienter	32
AFSLUTTENDE BEMÆRKNINGER	34
SUMMARY	36
LITTERATURLISTE	42

INTRODUKTION

Det har længe været kendt, at tendens til luftvejsinfektioner samt recidiverende og kronisk tonsillitis ikke sjældent er forbundet med gentagne tilfælde af et astmalignende sygdomsbillede hos børn (Steps 1967). Denne iagttagelse førte tidligere til en ret ukritisk holdning til adeno-tonsillectomi i håb om at reducere tendensen til astmalignende tilfælde hos disse børn, men erfaringerne med adeno-tonsillectomi har dog vist, at dette indgreb sjældent mindsker tendensen til udvikling af astmaanfald hos disse patienter (Steps 1967). Nogle forfattere har endog fundet en højere incidens af astma bronchiale hos tidligere tonsillectomerede børn sammenlignet med en kontrolgruppe af børn med kronisk tonsillitis, der ikke blev tonsillectomerede (Findeisen & Findeisen 1966).

Undersøgelser, der har taget sigte på at afsløre mulige immundefekttilstande hos børn med kronisk og recidiverende tonsillitis, er ret sparsomme, men en enkelt undersøgelse har antydnet, at en stor del af disse børn har nedsat, omend ikke manglende, IgA produktion (Donovan & Soothill 1973). Blandt tonsillitispatienter har man desuden hyppigt fundet, at et betydeligt antal af disse var kroniske bærere af patogene bakterier i tonsillerne (Kalbak 1942, Özek 1969, Donovan & Soothill 1973), hvilket af sidstnævnte forfattere blev taget til indtægt for en følge af den påviste nedsatte IgA produktion hos disse patienter.

Som ovenfor anført finder man en betydelig frekvens af adeno-tonsillectomi hos astmapatienter, som oftest grundet recidiverende luftvejsinfektioner, der hos denne patientgruppe særlig hyppigt synes at være fremkaldt af respiratorisk syncytial virus (Minor et al. 1974, Mitchell et al. 1976), hvorimod der sjældent hos denne patientgruppe er påvist et øget antal bærere af patogene bakterier (Robinson 1977). I større populationsundersøgelser af astmapatienter har man desuden

kunnet påvise en øget forekomst af IgA mangel hos disse (Kaufman & Hobbs 1970, Buckley 1975, Saha et al. 1975).

IgA og IgE producerende lymfoidt væv synes at være særlig rigt repræsenteret i respirationsvejsmucosa hos mennesket (Tada & Ishizaka 1970). Ligeledes synes både IgA og IgE responsen at være særlig afhængig af T-(Thymus-)celler, idet det i dyreforsøg er vist, at visse T-celler udøver en hjælper funktion for IgA dannelsen (Clough et al. 1971) og måske andre T-celler udøver en supprimerende effekt på IgE dannelsen (Tada et al. 1972). Hertil kommer, at flere forfattere i de senere år har fundet holdepunkter for, at en del patienter med atopiske sygdomme har en T-celle dysfunktion (Luckasen et al. 1974, Andersen & Hjorth 1975, McGeady & Buckley 1975).

Man har derfor fundet det af interesse i en prospektivt tilrettelagt undersøgelse at søge at belyse specielt betydningen af manglende eller nedsat IgA produktion for udviklingen af dels kronisk og recidiverende tonsillitis dels astma bronchiale hos børn. Disse 2 grupper af børn er blevet undersøgt efter følgende retningslinjer:

1. En vurdering af forekomsten af immunglobulin-holdige plasma-celler i adenoide vegetationer og tonsiller
2. En kvantitering af immunglobuliner i serum og blandingspyt
3. En vurdering af B- og T-celleforekomsten i perifert blod
4. En vurdering af immunglobulin-holdige blastceller i perifert blod efter pokeweed mitogen stimulation af perifere lymfocytter in vitro fra selekterede patienter med særlig lave IgA koncentrationer i serum
5. Dyrkning af bakterier fra fjernede tonsiller eller fra svælget - samt
6. En undersøgelse af forekomsten af tidligere adeno-tonsillectomi hos gruppen af patienter med astma bronchiale og en undersøgelse af frekvensen af atopiske sygdomme hos gruppen af tonsillitispatienter.

KAPITEL I

IMMUNOFLUORESCENSUNDERSØGELSER AF LYMFØIDT VÆV

Hvis tynde vævssnit fra humane lymfoide organer behandles med fluorescein isothiocyant koblete antisera rettet mod humane immunglobuliner vil det være muligt i et specielt mikroskopisk system (fluorescensmikroskop) at iagttage intenst fluorescerende partier i cytoplasmaet af forskellige lymfoide celler, som oftest plasmaceller, som udtryk for tilstedeværelsen af immunglobulin, der er produceret af de pågældende celler.

Ved den immunfluorescensmikroskopiske undersøgelse af forekomsten af IgG-, IgA-, IgM- og IgE-holdige plasmaceller i adenoid vegetationer (A.V.) og tonsiller i nærværende arbejder (Østergaard 1975, Østergaard 1977b) anvendtes den såkaldte "direkte" immunfluorescensmetode (enkeltlagsteknik), der i hovedtrækkene følger den metode, der blev anvendt af Tada & Ishizaka (1970) ved immunhistokemisk undersøgelse af A.V. og tonsiller. En gennemgang af vævspræparation, opbevaring af vævet, selve fluorescensmikroskopiens udførelse, det anvendte fluorescensmikroskop og de benyttede fluorescinkoblete antiimmunglobulinsera er publiceret andetsteds (Østergaard 1975, Østergaard 1977b). I det følgende skal derfor kun enkelte, ikke publicerede metodologiske problemer vedrørende de forskellige proceduretrin omtales nærmere.

I modsætning til tonsiller, der relativt let kan fjernes uden beskadigelse af vævet, løsnes A.V. i regelen fra rhinopharynxvæggen med skarp adenotom uden synets vejledning. Denne procedure vil ikke sjældent resultere i, at vævet er mere eller mindre kontunderet efter udtagelsen. Ved den immunhistokemiske vurdering af lymføidt væv fra astmapatienter forelå der i nærværende undersøgelse kun A.V. Det var dog altid muligt at opnå repræsentativt væv (se senere) fra alle disse patienter.

Der blev nedfrosset adskillige biopsier fra hver patient, og biopsierne blev nedfrosset ved -70°C indstøbt i gelatine og opbevaret i kumrefryser ved denne temperatur. Selve nedfrysningen af biopsierne kunne foretages på mindre et 1 minut, og ved den senere mikroskopi var det kun sjældent, at der kun-

ne iagttages generende ultrastrukturelle forandringer af vævet, der kunne være forårsaget af nedfrysning og/eller optøning (Farrant et al. 1968). I sådanne tilfælde var det altid muligt at anvende andet væv fra samme patient.

Før den immunhistokemiske undersøgelse af vævet fandt sted blev der altid fremstillet et toluidinblåtfarvet præparat til bedømmelse af, om vævet var skåret fra repræsentative områder d.v.s. områder omfattende epitelet og submucosa samt tilstedeværelsen af tydelige lymfenoduli. Da denne farvemethode er for usikker til at bedømme forekomsten af plasmaceller i biopsien, blev der ligeledes fremstillet et methylpyroningrønt farvet præparat. Denne farvemethode gav altid et sikkert billede af plasmacellelokalisering- og morfologi i det pågældende præparat (Østergaard 1975). Grundet det store antal biopsier fra hver patient var det altid muligt at opnå pæne ensartede snit med en tykkelse på 6 μ m og en dimension på ca. 5 x 5 mm. Uensartet vævstykkelse kan give en varierende forekomst af celler i et præparat (Søltoft & Søbørg 1972), men en vurdering af vævstykkelsen af præparaterne har ikke fundet sted i nærværende arbejder.

I de methylpyroningrøntfarvede præparater kunne man påvise plasmaceller i småhobe i et antal på 10 til 20 beliggende lige under epitelet og ikke sjældent infiltrerende dette. Plasmacellerne fandtes desuden spredt i vævet samt i periferien af lymfenoduli. Den uensartede forekomst af plasmaceller i snittene vanskeliggjorde en egentlig kvantitativ vurdering af antallet af plasmaceller, og en kvantitativ planimetrisk metode som beskrevet af Søltoft (1969) har ikke været benyttet i nærværende arbejder (Østergaard 1975, Østergaard 1977b). Derimod blev der benyttet en semikvantitativ metode (Tada & Ishizaka 1970), hvor man i en biopsis udstrækning foretog en bedømmelse af samtlige plasmaceller, der havde specifik fluorescens af cytoplasmaet ved behandling med det pågældende fluorescinkoblede antiserum (Østergaard 1975).

På basis af resultaterne af de methylpyroningrønt farvede præparater fandt man ved den senere immunhistokemiske bedømmelse, at det oftest var IgG- og IgA-holdige plasmaceller, der var lokaliseret subepitelialt samt i periferien af lymfenoduli, hvorimod IgM- og IgE-holdige plasmaceller forkom ret

spredt i vævet. Det kunne derved vises, at antallet af IgG- og til dels også IgA-holdige plasmaceller forekom 10 til 15 gange så hyppigt i tonsiller og A.V. som antallet af IgM- og IgE-holdige plasmaceller (upublicerede data). Disse fund er i overensstemmelse med Crabbe' & Heremans' (1967) samt Tada & Ishizaka's (1970) og Curran & Jones' (1977) immunhistokemiske undersøgelser af A.V. og tonsiller.

KAPITEL II

IMMUNGLOBULINBESTEMMELSER I SERUM OG BLANDINGSSPYT

Til undersøgelserne af immunglobulinkoncentrationerne af IgG, IgA og IgM i serum og blandingsspyt har der været anvendt en metode, der oprindeligt blev udformet af Laurell (1966), "rocketmetoden", og senere modificeret af Weeke (1968a, 1968b). Sidstnævnte fandt, at tilsætning af KCNO (carbamylering) muligvis bevirker en reaktion mellem dette stof og proteinernes frie alfa-, epsilon- og sulfhydrylgrupper. Denne reaktion mindsker proteinernes isoelektriske punkter og øger den elektroforetiske mobilitet af proteinerne, der i et elektrisk felt ved pH 8.6 vil vandre i retning af anoden. En detaljeret gennemgang vedrørende fremstilling af geler, standarder og prøver samt carbamylering af disse og selve elektroforesens udførelse er publiceret andetsteds (Østergaard & Blom 1977). I nærværende oversigt skal derfor kun omtales forskellige problemer vedrørende bestemmelse af immunglobuliner i spyt samt gives en vurdering af den anvendte metodiks evne til at bestemme lokalt produceret immunglobulin i spyt.

Der synes at knytte sig en vis interesse til at kunne undersøge sekreterers indhold af immunglobulin, specielt IgA, idet dette immunglobulin sandsynligvis langt overvejende produceres lokalt i submucosa af overfladenære væv og i sekreter fungerer som en slags "first line of defence" mod udefra in-

vaderende antigener (Tomasi & Grey 1972). IgA forekommer desuden langt overvejende i sekreter som dimer IgA knyttet sammen af J-(Joining-) kæde (Kaji & Parkhouse 1974) samt knyttet til et glycoprotein af non-immunkarakter, Secretory Component (SC), ved disulfidbroer og non-covalente bindinger (Brandtzaeg 1971a). Dette kompleks betegnes som sekret IgA (SIgA), der formentlig på grund af sin tilknytning til SC er særlig modstandsdygtigt mod degradering af proteolytiske enzymer i sekreter (Lindh 1975).

Der knytter sig dog ret store problemer til en nøjagtig måling af SIgA. Dette skyldes tildels det forhold, at IgA forekommer i sekreter dels som 7S IgA dels som polymert IgA frit eller bundet til SC (Hansson & Brandtzaeg 1973). Når man som i nærværende undersøgelser har benyttet en serumstandard til bestemmelse af IgA i spyt, må man regne med, at de koncentrationer, man finder, vil være lavere end den aktuelle IgA koncentration i sekretet (Hansson & Brandtzaeg 1973). Desuden er immunglobulinindholdet i sekreter ret afhængig af varierende flow rate betinget af varierende stimulation af sekretet. Således er det vist, at IgA indholdet i stimuleret parotissekret aftager 3 til 4 gange i forhold til ustimuleret parotissekret (Brandtzaeg 1971b). Yderligere har det vist sig, at IgA mængden - specielt i ustimuleret sekret falder betragteligt ved længere tids opbevaring (Brandtzaeg 1971b). I nærværende arbejde med anvendelse af ustimuleret blandingsspyt er der dog ved ca. 3 års opbevaring i tatsluttende glas ved -20°C kun fundet et fald i IgA mængden på ca. 5 % (upublicerede data). Desuden har man fundet, at en kort opsamlingsperiode af spyttet på mellem 1 og 2 minutter sandsynligvis er årsag til den fundne ret ringe intraindividuelle variation af spyt IgA koncentrationen på forskellige tidspunkter af dagen (Østergaard & Blom 1978).

Ved forskellige sygelige tilstande af epitelet kan det ikke udelukkes, at der forekommer eksudation af serumproteiner til sekretet, hvilket gør bestemmelser af sekretimmunglobuliner til en usikker metode. I nærværende arbejder (Østergaard 1976, 1977a, 1977b) har man søgt at udelukke denne fejlkilde ved omhyggelig inspektion af mundhulen hos samtlige

patienter og kontrolbørn. I intet tilfælde kunne der konstateres mundhuleinflammationer hos de deltagende børn.

Ovennævnte forhold bevirker en vis usikkerhed, hvis man ønsker at måle produktionen af "lokalt" produceret immunglobulin, men følgende formler, angivet af Donovan et al. (1970), synes dog at kunne anvendes med en vis tilnærmelse:

Lokalt produceret immunglobulin (Ig) = Ig (sekret) -

$$\frac{\text{albumin (sekret)}}{\text{albumin (serum)}} \times \text{Ig (serum)}$$

Da albumin sandsynligvis ikke produceres lokalt og derfor i forhold til immunglobuliner kan betragtes som en inaktiv substans (Deuschl & Johansson 1974), andrager ratio

$$\frac{\text{albumin (sekret)}}{\text{albumin (serum)}}$$

et mål for ultrafiltrationen af albumin fra serum til sekret. Mængden af immunglobulin, som ultrafiltreres gennem mucosa, kan så udregnes ved at multiplicere ovennævnte ratio med serumkoncentrationen af det pågældende immunglobulin. Summen af denne beregning subtraheres dernæst immunglobulinkoncentrationen i sekret, hvorefter lokalt produceret immunglobulin i procent kan beregnes efter følgende ækvivation:

$$\frac{\text{Lokal produktion af Ig}}{\text{Ig-koncentration i sekret}} \times 100$$

Da albuminkoncentrationerne i nærværende undersøgelser er angivet i mg/100 ml, men immunglobulinkoncentrationerne i IU/ml, er immunglobulinkoncentrationerne i serum og spyt konverteret til mg/100 ml inden beregning har fundet sted. Konverteringsfaktorer for bl.a. IgG og IgA fra IU/ml til mg/100 ml er angivet af Humphrey & Batty (1974).

Til bedømmelse af lokalt produceret immunglobulin i blandingsspyt med anvendelse af den i dette arbejde benyttede a-

analysemetode valgtes lo raske børn i alderen 6 til 12 år, der alle havde målelige koncentrationer af IgG og IgA i spyt. Derimod var det meget sjældent, at man kunne måle IgM i spyt (Østergaard & Blom 1977). Resultaterne af undersøgelserne ses i Tabel 1, hvoraf det fremgår, at middelkoncentrationen (medianen) for lokalproduktion af IgA i blandingsspyt var 98.4 %, hvilket med andre ord vil sige, at den fundne IgA mængde må betragtes som værende lokalt produceret. Det ses ligeledes af tabellen, at en betragtelig del af IgG mængden i spyt, ca. 60 %, synes at være lokalt produceret. Procentandelen af lokalt produceret IgG og IgA i nærværende undersøgelser af blandingsspyt er en del større end fundet af andre i f.eks. bronchiale sekret (Deuschl & Johansson 1974). Denne forskel kan dog skyldes flere forhold f.eks forskel i analysemetoder, forskelle af de benyttede antisera, forskelle i opsamlings teknik og de forskellige lokaliteter, hvorfra sekretet er hentet.

Sluttelig skal det nævnes, at serum IgE bestemmelserne blev foretaget dels af klinisk-kemisk afdeling, Odense Sygehus, dels af Medicinsk Laboratorium i København. I begge tilfælde er der anvendt en radioimmunosorbent test (RIST) beskrevet af Johansson et al. (1968). Den kit, der blev benyttet, var i begge tilfælde leveret af Pharmacia, København. Sensitiviteten af RIST var ca. 10 enheder/ml.

KAPITEL III

B- og T-CELLESUBPOPULATIONER I PERIFERT BLOD

A. THYMUSAFHÆNGIGE-(T-) CELLER

I begyndelsen af dette tiår opdagede man et nyt redskab til at vurdere forekomsten af T-celler, idet man fandt, at T-celler fra forskellige dyrearter havde specielle receptorer for heterologe erythrocytter (Brain et al. 1970, Jondal et al.

1972). De heterologe erythrocytter dannede i regelen rosetlignende figurer omkring T-celler, såkaldte "erythrocyte rosette forming cells" (E-RFC), og nævnte forfattere fandt, at særlig fåere erythrocytter, "sheep red blood cells" (SRBC), var velegnede ved undersøgelser af forekomsten af humane T-celler.

At E-RFC i lymfoide væv og perifert blod virkelig er T-celler, synes der at være flere beviser for. Således har man fundet, at næsten alle thymuslymfocytter danner rosetter med SRBC, og denne rosetdannelse hæmmes ikke af antiglobulinsera (Silveira et al. 1972). Derimod vil antilymfocytserum hæmme dannelsen af E-RFC (Farid et al. 1973). Ligeledes er det muligt at separere E-RFC fra de øvrige lymfocytpopulationer i perifert blod, og de således separerede celler vil blandt andet være i stand til at udøve lymfocytotoksisk effekt (Jon-dal & Pross 1975), hvilket er et kriterium for en T-celle effektorfunktion. Selv om et normalt antal T-celler i perifert blod ikke er et udtryk for normale T-celle effektorfunktioner, har man dog fundet en ret god overensstemmelse mellem antallet af E-RFC og forskellige T-celle effektorfunktioner (Wybran & Fudenberg 1975).

Bindingen mellem T-celler og SRBC er ikke særlig stabil, hvilket formentlig er en medvirkende årsag til de ret forskellige normalværdier for E-RFC hos mennesket. Dette forhold har medført forskellige bestræbelser på at stabilisere rosetdannelsen mellem SRBC og T-celler. Det har således vist sig, at en høj koncentration af protein i mediet, f.eks. i form af komplementinaktiveret, føtalt kalveserum, stabiliserer den løse binding mellem SRBC og T-celler (Virolainen et al. 1973). Desuden har man fundet, at forbehandling af erythrocytterne med papain (Chapel 1973) eller neuroamidase (Jon-dal 1974) øger antallet af E-RFC. Endelig har det vist sig, at dannelsen af T-rosetter kræver et pH optimum på mellem 7 og 8 (Jon-dal et al. 1972), og at optimal rosetdannelse opnås ved kort tids præincubering af lymfocytter og SRBC ved 37° C og dernæst langtidsincubering (18 - 24 timer) ved 4° C (Walbraut et al. 1971).

De ovennævnte proceduretrin er med mindre modifikationer blevet anvendt i nærværende undersøgelser af T-celle forekomsten i perifert blod hos tidligere tonsillektomerede børn, hos patienter med astma bronchiale samt hos raske kontrolbørn (Østergaard 1977c, Østergaard & Eriksen 1977). I stedet for føtalt kalveserum har man som proteinmedium anvendt kompletinaktiveret humant AB serum til stabilisering af rosetdannelsen. Denne forskel i anvendelse af proteinmedium har dog vist sig at være betydningsløs, idet forsøg dels med føtalt kalveserum dels med humant AB serum ikke gav anledning til vekslende resultater af E-RFC hos den samme forsøgsperson (upublicerede data).

Som stabilisator for rosetdannelsen har man i nærværende undersøgelser anvendt erythrocytter, der var forbehandlet med papain. Der har desuden været foretaget bedømmelse af rosetdannelsen med og uden forbehandling af erythrocytterne med papain. Det kunne herved konstateres, at anvendelse af SRBC, der ikke var forbehandlede med papain, gav varierende resultater hos det samme individ. Derimod kunne der ikke konstateres nogen nævneværdig forskel i antallet af E-RFC, når erythrocytterne var forbehandlet med papain (upublicerede data).

B. BURSAAFHÆNGIGE-(B-) LYMFOCYTTES

Kriteriet for, at man står over for celleforstadier til immunglobulinproducerende immunocyttter, de såkaldte B-lymfocyttter, er, at man ser lymfocyttilignende celler i knoglemarv, lymfoidt væv og perifert blod, der ved behandling med fluorescin isothiocyankoblede antiimmunglobulinsera frembyder intens fluorescens af cellemembranen, enten som en ringlignende struktur eller som granulære, fluorescerende partier i cellemembranen (Pernis et al. 1970). Bestemmelse af B-celle subpopulationer i f.eks. perifert blod har de senere år fået tiltagende betydning bl.a. som led i en klassificering af immundefekter. Det har således været muligt at afsløre tilstedeværelsen af lymfocyttter med såvel IgG-, IgA- og IgM- (Lawton et al. 1972) som IgE- (Schoeph & Boehringer 1974) og IgD-

(Winchester et al. 1975) fluorescerende cellemembraner hos raske individer. Kombinerede undersøgelser med anti-IgM og anti-IgD sera taler desuden for, at B-lymfocytter med membranbundet IgM og IgD er identiske (Feldman et al. 1975).

I de første år, efter at metoden til bestemmelse af membranbundet immunglobulin blev taget i anvendelse, blev der publiceret ret varierende "normalværdier" for de individuelle immunglobuliner. Således rapporterede bl.a. Grey et al. (1971) samt Lawton et al. (1972) en dominans af lymfocytter i perifert blod med membranbundet IgG, hvorimod Preud'homme & Seligman (1972) fandt, at lymfocytter med membranbundet IgM dominerede over lymfocytter med membranbundet IgG i perifert blod.

Denne discrepans fandt sin formentlig endelige afklaring ved Lobo et al.'s (1975) samt Winchester et al.'s (1975) påvisning af, at IgG-membranocytter var repræsenteret af 2 celletyper, nemlig for det første en mindre del med "ægte" IgG membranfluorescens og for det andet en væsentlig større del med mindre stabil IgG fluorescens. Sidstnævnte består af lymfocytter, der i membranen har receptorer for Fc-fragmentet (den komplementbindende del) af IgG, og ved anvendelse af komplet antistof rettet mod IgG kan man selv med ekssivt vaskede lymfocytter næppe undgå, at der tilbage i mediet bliver små mængder IgG, der kan danne immunkomplekser med det tilsatte anti-IgG, der ved hjælp af Fc-delen binder sig til lymfocytmembranen (Winchester et al. 1975).

Denne uspecifike binding af IgG-Fc til lymfocytmembranen kan undgås på 2 måder. Den sikreste måde er at undgå at arbejde med komplet IgG antistof og i stedet anvende anti-F(ab')₂ fragmenter af IgG. Herved fandt Winchester et al. (1975), at procentandelen af lymfocytter med membranbundet IgG var meget ringe i perifert blod - under 1 %. Derimod fandtes procentandelen af lymfocytter med membranbundet IgM væsentlig større. Hvis man ikke har anti-F(ab')₂ af IgG til sin rådighed og derfor må arbejde med komplet anti-IgG viste Lobo et al. (1975), at præincubering af lymfocytter i ca. 1/2 time ved 37° C hindrer bindingen af IgG-Fc til lymfocytmembranen. Herved opnår man næsten samme lave procentandel

lymfocytter med membranbundet IgG som ved incubering af lymfocytterne med anti-F(ab')₂ fragment af IgG.

I nærværende undersøgelser af lymfocytter med membranbundet IgG, IgA, IgM og IgE har man hovedsagelig fulgt den af Pernis et al. (1970) angivne metode med modifikationer som angivet af Lobo et al. (1975) og Winchester & Fu (1976). Detaljerede proceduretrin vedrørende disse undersøgelser er publiceret andetsteds (Østergaard 1977c), hvorfor der henvises til dette arbejde. Til undersøgelserne blev der anvendt komplet antiserum af kommerciel oprindelse rettet mod humant IgG, IgA, IgM og IgE koblet til fluoresceinisothiocyanat. De opnåede resultater hos raske børn (Østergaard & Eriksen 1977) viste god overensstemmelse med undersøgelser af B-celler i perifert blod hos raske voksne med anvendelse af anti-F(ab')₂ sera (Pepys et al. 1976).

KAPITEL IV

IMMUNGLOBULINSYNTSE AF PERIFERE LYMFOCYTTER IN VITRO

Man har vidst gennem mange år, at antigener, hvorimod et individ er præimmuniseret, kan stimulere lymfocytter fra det samme individ til blastlignende celler in vitro, og denne reaktion beror formentlig på en interaktion mellem antigenet og specifikke receptorer for antigenet i lymfocytmembranen (Coombs et al. 1969). Visse planteekstrakter som f.eks. phytohemagglutinin (PHA) og pokeweed mitogen (PWM) kan ligeledes stimulere perifere lymfocytter in vitro til blastdannelse.

Oprindeligt mente man, at PWM udelukkende stimulerede B-celler til blastdannelse, hvilket dog næppe er tilfældet, idet procentandelen af blastceller i en PWM stimuleret lymfocytkultur som regel er højere end det måtte forventes med et forudgående kendskab til den eksisterende B-lymfocytpopulation

fastlagt f.eks. ved hjælp af en undersøgelse af perifere lymfocytter med membranfluorescens.

I de senere år er der meddelt en del undersøgelser, hvor man i PWM stimulerede lymfocytkulturer ved immunhistokemiske metoder har bestemt antallet af blastlignende celler, der i cytoplasmaet udviste fluorescens ved behandling med fluorescinkoblede antiimmunglobulinsera (Waldmann et al. 1974, Broom et al. 1976). Man har derfor i nærværende arbejde (Østergaard 1977c) fundet det af interesse at undersøge disse forhold hos selekterede tonsillitis- og astmapatienter med særlig lav IgA koncentration i serum og spyt. De fleste af disse patienter manglede desuden IgA fluorescerende plasmaceller ved immunhistokemisk undersøgelse af tonsiller eller A.V. (Østergaard 1976, Østergaard 1977b). En beskrivelse af de forskellige proceduretrin er beskrevet andetsteds (Østergaard 1977c), hvorfor kun enkelte ikke publicerede detailspørgsmål skal berøres på dette sted.

Det anvendte PWM var af kommerciel oprindelse (Gibco), og fabriksanvisninger på en stimulatorisk dosis af 10 mikroliter PWM i en fortynding på 1:100 pr. lymfocytkultur (1×10^6 celler/ml) har generelt været fulgt i nærværende undersøgelser. Dog har den anvendte PWM dosis været genstand for supplerende undersøgelser. Således har man undersøgt det procentuelle blastcellerespons af lymfocytkulturer med varierende PWM doser på 2 til 20 mikroliter pr. lymfocytkultur fra samme raske kontrolpersoner. Det kunne herved konstateres, at PWM doser mellem 6 og 20 mikroliter pr. lymfocytkultur ikke gav nogen nævneværdig ændring af blastcelleresponset, hvorimod PWM doser på henholdsvis 2 og 4 mikroliter pr. lymfocytkultur resulterede i et betydeligt fald af blastcelleresponset.

Alle PWM stimulationsforsøg med lymfocytter fra patienter og kontrolbørn foregik i autologt serum og med autologe lymfocytter. Nærværende undersøgelser har derfor ikke kunnet afsløre en evt. stimulerende eller supprimerende effekt af autologt serum eller af autologe lymfocytter. Der kunne dog ikke konstateres nogen signifikant forskel mellem patienter og kontrolbørn m.h.t. det resulterende blastcellerespons (Østergaard 1977c).

KAPITEL V

BAKTERIOLOGISKE UNDERSØGELSER

Da alle undersøgelser af bakteriekulturer fra patienterne blev foretaget ved Regionalafdelingen, Statens Seruminstitut, Aalborg Sygehus, og da karakteristika for de forskellige patogene bakterier er publiceret andetsteds (Østergaard 1976) samt da de bakterielle fund vil blive kommenteret i et senere afsnit i nærværende oversigt, skal kun enkelte detaljer vedrørende podninger fra patienterne berøres nærmere på dette sted.

Undersøgelser af bakterieforekomst hos patienterne blev principielt foretaget på 2 måder. Hos patienter, der blev tonsillectomeret, blev et lille stykke (ca. 1 x 1 mm) fra øverste tonsilpol af den sterilt udtagne tonsil transporteret i sterilt podeglas til dyrkning på ovennævnte mikrobiologiske institut. Her blev tonsilbiopsierne findelt med en steril saks og udsået på blodagar- og chocolateagarplader og dyrket på disse ved 35° C både aerobt og anaerobt og aflæst efter henholdsvis 24 og 48 timer (Østergaard 1976).

Ved en efterkontrol af de yngste tonsillectomipatienter 2 1/2 år efter tonsillectomi (Østergaard 1977a) blev der i hvert enkelt tilfælde foretaget podning med en steril vatpind fra et tomt tonsilleje. Hos gruppen af astmapatienter blev der ligeledes foretaget podning med en steril vatpind, enten fra et tomt tonsilleje i tilfælde af tidligere foretaget tonsillectomi eller fra tonsillernes medialflade ved tonsiller in situ. Alle podninger blev transporteret i et sterilt podeglas og udsået på agarplader mindre end en halv time efter at podningen var foretaget.

Ved fund af hæmolytiske streptococcer blev disse alle gruppe- og typebestemt ved streptococafdelingen, Statens Seruminstitut, København. Ved fund af Haemophilus influenzae blev disse altid undersøgt for kapselsvulst med Haemophilus

influenzae type b serum. Derimod blev der ikke foretaget nogen typebestemmelse ved fund af Staphylococcus aureus eller pneumococcer.

KAPITEL VI

INTRODUKTION AF EGNE PATIENTER

En kort præsentation af de i nærværende undersøgelser indgående patienter er publiceret andetsteds (Østergaard 1976, 1977a, 1977b). Da visse vigtige data af betydning for nærværende oversigts indhold, specielt hvad angår frekvensen af infektionssygdomme og allergiske sygdomme hos de 2 patientgrupper, ikke er publiceret tidligere, skal disse forhold omtales nærmere på dette sted.

A. TONSILLITISPATIENTER

Gruppen af tonsillitispatienter androg oprindeligt 52 konsekutivt indlagte patienter i alderen 4 til 15 år. 34 (65 %) af patienterne blev henvist til tonsillectomi på Øreafdelingen, Sct. Joseph Hospital, Aalborg, af praktiserende otologer. De resterende 35 % var henvist af egen læge. Tonsillectomiindikationerne for disse børn er publiceret tidligere, men langt den overvejende del af patienterne (73.5 %) blev tonsillectomeret grundet hypertrofiske tonsiller med recidiverende tonsillitis (2 til 4 tilfælde pr. år i mere end 2 år). Hos 31 (60 %) fandt man i perioder imellem de akutte exacerbationer af tonsillitis tegn på kronisk infektion af tonsillerne i form af pus i tonsilkrypterne.

8 af patienterne (14.6 %) led af andre recidiverende eller kroniske infektioner end tonsillitis, som oftest otitis media eller bronchitis. Ved undersøgelsens start (efteråret 1973) fandt man 7 tilfælde af allergisk sygdom (13.5 %). 3 af 4 patienter, der alle havde svært atrofiske tonsiller med recidiverende tonsillitis havde atopisk sygdom (2 astma og 1 atopisk dermatitis). Ved en efterundersøgelse af de yngste tonsillectomipatienter 2 1/2 og 3 1/2 år efter tonsillectomi (Østergaard 1977a, Østergaard 1977c) konstateredes yderligere 4 tilfælde af allergisk sygdom. Det skal understreges, at alle de nævnte patienter med allergisk sygdom havde fået sygdommen konstateret på pædiatrisk specialafdeling eller hos praktiserende dermatolog. 9 af de 11 patienter med allergisk sygdom (81.8 %) havde en eller flere positive cutantests overfor forskellige allergener.

Hertil kommer, at yderligere 4 af de yngre tonsillectomipatienter, eller deres forældre, kunne berette om symptomer på sandsynlig allergisk sygdom. Således havde en af disse hududslæt i forbindelse med penicillinindgift, 2 patienter havde anamnestisk typiske symptomer på atopisk rhinitis i sommerhalvåret, og yderligere en patient havde flere gange haft urticarielignende udslæt i forbindelse med indtagelse af jordbær. I Tabel 2 er de 15 patienter med sikker eller sandsynlig allergisk sygdom summeret.

Hos 10 af disse 15 patienter (66 %) kunne der anamnestisk påvises tegn på allergi blandt de nærmeste slægtninge (forældre eller søskende). Til sammenligning tjener, at der blandt de resterende 37 tonsillectomipatienter kun fandtes disposition til allergiske lidelser hos 5 af disse (13.5 %).

Da der kun kunne påvises tegn på immunologisk mangeltilstand hos de mindreårige tonsillitispatienter (IgA mangel), blev kun disse 28 genstand for efterundersøgelser (se senere).

Table 2. Cases of Atopic Diseases in the 52 Tonsillectomized children

Atopic Disease	Bronchial Asthma	Atopic Dermatitis	Atopic Rhinitis	Urti- caria	Total
Obvious	6	2	3		11
Probable			2	2	4
Total	6	2	5	2	15

B. PATIENTER MED ASTMA BRONCHIALE

Undersøgelsen omfattede 54 konsekutive patienter i alderen 3 til 15 år, der var indlagt til allergologisk udredning på børneafdelingen, Aalborg Sygehus, afsnit Nord, i perioden 1/7-74 til 30/6-75.

En stor gruppe af disse børn, nemlig 32 (60 %), led af hyppigt recidiverende luftvejsinfektioner (bronchitis, pneumoni eller otitis media). 14 af disse børn (43.8 %) havde fået foretaget isoleret adenoidectomi, og 5 (15.6 %) havde fået foretaget kombineret adenotonsillectomi. Totalantallet af adenotonsillectomerede patienter i denne gruppe var altså ca. 59 %. Gennemsnitsalderen for de 32 astmapatienter med recidiverende luftvejsinfektioner var ved efterundersøgelsens start (marts 1976) 5 1/12 år.

De resterende 22 astmabørn havde ved efterundersøgelsens start en gennemsnitsalder på 11 1/12 år. Disse børn var alle meget svært præget af extrinsic astma - dog uden tegn på specielt infektionsudløsende faktorer. En stor del af disse børn havde dog også lidt af recidiverende luftvejsinfektioner i småbarnsalderen, og 61 % af dem var i denne periode af deres liv blevet adenoidectomeret eller tonsillectomeret. Hos 39 (72 %) af det totale antal astmapatienter på 54 kunne der påvises disposition til allergiske lidelser.

KAPITEL VII

RESULTATERNE AF DE KLINISKE, BAKTERIOLOGISKE OG IMMUNOLOGISKE UNDERSØGELSER

A. PATIENTER MED TONSILLITIS CHRONICA ET RECIDIVANS

1. Tonsillernes immunologiske rolle

Undersøgelser af tonsillernes immunologiske rolle hos mennesket skæmmes i nogen grad af, at alle hidtil foretagne undersøgelser af denne funktion er foregået med tonsiller, der er fjernet fra børn eller voksne på grund af sygdom, som oftest kronisk eller recidiverende tonsillitis. På den anden side vil det formentlig både af etiske og legale grunde (Lowe et al. 1974) være vanskeligt at fremskaffe et kontrolmateriale bestående af tonsilvæv fra individer uden tendens til recidiverende tonsillitis.

Af undersøgelser over humane tonsillers immunologiske funktion, der har et mere eksperimentelt end klinisk sigte, kan nævnes Surjan & Surjan (1969, 1970, 1971), der fandt, at antigenstimulerede tonsillymfocytter udviste en høj grad af antistofaktivitet, og at ustimulerede tonsillymfocytter var i stand til at producere antistoffer på grundlag af antigeninformation fra fjernere liggende lymfoide organer. Disse resultater adskilte sig dog ikke fra, hvad f.eks. regionale lymfeknuder kunne præstere af antigeninformation og antistofdannelse (Surjan & Surjan 1971).

Konklusionen af de nævnte undersøgelser, kompletet med morfologiske studier af tonsillymfocytters evne til at migrere inden for tonsillernes område - samt at forlade tonsillerne via disses efferente lymfebaner (Koburg 1965, Falk & Mootz 1973), må blive, at tonsillerne besidder vigtige immunologiske egenskaber, og at der består en ret intim forbindelse af immunologisk karakter mellem tonsillerne og organismens øvrige lymfoide væv.

Zucker-Franklin & Berney (1972) fandt ved kombinerede elektronmikroskopiske og immunhistokemiske undersøgelser af tonsillymfocytter, at ca. 80 % af disse sandsynligvis tilhørte det thymusafhængige immunsystem (t-celler). Disse resulta-

ter, baseret på morfologiske studier, kunne dog ikke bekræftes af Lay et al. (1971) eller af Hurtado et al. (1974), der på grundlag af tonsillymfocytters evne til at danne E-rosetter, fandt, at højst 40 % af lymfocytterne her kunne identificeres som værende T-celler.

Der foreligger flere immunhistokemiske undersøgelser af forekomsten af immunglobulin-holdige plasmaceller i tonsiller og A.V. hos børn med recidiverende luftvejsinfektioner. Således kunne Crabbe' & Heremans (1967) i A.V. og Tourville et al. (1969) samt Tada & Ishizaka (1970) i tonsiller påvise en næsten konstant forekomst af IgG-, IgA- og IgM-holdige plasmaceller. Der er desuden påvist en betydelig hyppigere forekomst af IgE-holdige plasmaceller i A.V. og tonsiller end i regionale lymfeknuder (Tada & Ishizaka 1970), ligesom der også forekommer IgD-holdige plasmaceller i humane tonsiller (Van Boxel et al. 1972). Yderligere har Schmedtje & Batts (1973) fundet, at IgG, IgA og IgM plasmaceller viser en tendens til at koncentrere sig omkring sinusoiderne i tonsillerne, hvilket antyder, at det producerede immunglobulin secerner i disse sinusoider. Senere har Rynnel-Dagö et al. (1977) vist, at B-celler fra perifert blod responderede bedre på polyclonale B-celleaktivatorer end B-celler fra A.V. og postulerede, at forskellige B-celle subpopulationer residerede i forskellige lymfoide væv.

Der foreligger kun få undersøgelser over tonsillymfocytters evne til at udvise lokal cellemedieret immunitet (CMI). Således er det fundet, at tonsillymfocytter besidder en betydelig CMI rettet mod naturlig erhvervet rubellainfektion, uden at der nødvendigvis samtidig udvikles serumantistoffer eller systemisk CMI rettet mod rubellaantigen (Hurtado et al. 1974). Noget lignende er vist af Morag et al. (1975), og disse fund er i overensstemmelse med den såkaldte "compartmentalization" teori (Henney & Waldman 1972), der går ud på, at der består en discrepans mellem udvikling af lokal eller systemisk immunitet, alt efter lokaliseringen af det appli-

cerede antigen, men at dette forhold dog i nogen grad er dosisafhængigt.

2. Resultaterne af egne immunhistokemiske undersøgelser af tonsilvæv

I modsætning til de tidligere nævnte immunhistokemiske undersøgelser af tonsilvæv fandt Østergaard (1975) en betydelig mangel på IgA og IgE fluorescerende plasmaceller i tonsilvæv fra 52 tonsillectomerede børn. Mangelen på IgE plasmaceller var jævnt forekommende i de forskellige aldersgrupper, hvorimod IgA plasmacellemangel var hyppigst hos de yngste af de tonsillectomerede børn.

Denne discrepans mellem de tidligere nævnte immunhistokemiske undersøgelser af tonsiller og egne resultater er ikke klar, og en sammenligning mellem de forskellige arbejder er vanskelig af flere grunde. For det første foreligger der ikke arbejder, hvori der indgår noget kontrolmateriale af tonsiller fra børn uden tendens til recidiverende luftvejsinfektioner. For det andet består de tidligere nævnte immunhistokemiske undersøgelser af tonsiller og A.V. af ret små patientgrupper - som oftest 5 til 15 patienter. Yderligere har disse arbejder ikke været tilrettelagte med henblik på at afsløre en eventuel immundefekt hos disse børn, hvorfor der ikke foreligger nogen nærmere præsentation af patienterne. Det er således muligt, at disse børn ikke led af svære, til dels kroniske, tonsilinfektioner, som det var tilfældet for flertallet af de patienter, der indgik i Østergaard's undersøgelser (1975). Som anført fandtes den betydeligste mangel på IgA plasmaceller hos de yngste patienter, der indgik i sidstnævnte undersøgelse, hvilket måske kan forklares ved en forsinket eller inkomplet udvikling af disse børns IgA system.

3. Resultaterne af immunglobulinundersøgelser i serum og spyt

Hos de 52 tonsillectomipatienter fandt Østergaard (1976)

desuden, at mange af disse havde meget lave IgA koncentrationer i serum og blandingsspyt sammenlignet med raske jævnaldrende kontrolbørn. Ligeledes kunne der konstateres ret lave serum IgE koncentrationer hos disse patienter. Ved en opdeling af børnene i aldersklasserne 4 til 9 år (28) og 10 til 15 år (24) fandt man, at IgA mangel i serum og spyt kun var knyttet til de mindreårige børn. Den tidligere nævnte IgA plasmacellemangel i tonsilvæv hos en del af disse patienter kunne desuden direkte korreleres til nedsatte IgA koncentrationer i serum, hvorimod der ikke kunne påvises nogen forbindelse mellem mangel på IgE fluorescerende plasmaceller i tonsillerne og nedsatte IgE koncentrationer i serum (Østergaard 1976, 1977a).

4. Korrelationen mellem bakterievækst fra patienternes tonsiller og resultaterne af immunglobulinfundene i tonsilvæv, serum og blandingsspyt

Selvom det er vist, at tonsilepitelet- og krypterne generelt afspejler de mikrobielle økologiske forhold i mundhulen (Veltri et al. 1972a), findes der dog kun få arbejder, hvor man har undersøgt forholdet mellem bakterieforekomst i tonsillerne og koncentrationen af immunglobuliner i serum og spyt hos tonsillitispatienter. Donovan & Soothill (1973) fandt ved en undersøgelse af 36 tonsillitisbørn, at kun 3 af disse havde serum IgA koncentrationer over middelværdien af serum IgA koncentrationen hos en aldersrelateret kontrolgruppe af raske børn. Forfatterne fandt desuden, at lav serum IgA koncentration og nedsat phytohemagglutininstimulation af tonsillymfocytter in vitro kunne korreleres til vækst af Haemophilus influenzae (H. infl.) fra de fjernede tonsiller. Disse patienter blev dog ikke genstand for en nærmere efterundersøgelse.

Veltri et al. (1972b) kunne dog ikke påvise nedsatte serumimmunglobulinkoncentrationer hos 17 børn før eller 12 må-

neder efter tonsillectomi. Disse forfattere undersøgte ikke forekomsten af patogene bakterier i tonsillerne hos disse børn, der blev tonsillectomerede grundet varierende øvre luftvejsinfektioner.

Hos de 52 tonsillitisbørn påviste Østergaard (1976) en betydelig forekomst af potentielt patogene bakterier i de fjernede tonsiller. Det drejede sig hovedsageligt om beta-hæmolytiske streptococcer (46 %) og *H. infl.* (21 %). 13.5 % af børnene var bærere af *Staphylococcus aureus* (staph. aur.), og de resterende 19.5 % havde normal svælgflora i deres tonsiller. En del af de patienter, der havde beta-hæmolytiske streptococcer eller *H. infl.* i tonsillerne, var ligeledes bærere af staph. aur.

Bærere af *H. infl.* og beta-hæmolytiske streptococcer i tonsillerne havde signifikant lavere IgA koncentrationer i serum sammenlignet med de patienter, der var bærere af normal svælgflora eller staph. aur. Hos patienter med *H. infl.* og beta-hæmolytiske streptococcer påvist der ligeledes et signifikant lavere antal IgA plasmaceller i tonsillerne sammenlignet med de patienter, der havde staph. aur. eller normal svælgflora i deres tonsiller (Østergaard 1976).

Hos 6 af de 9 mindreårige tonsillitisbørn (66 %), der var bærere af *H. infl.* i tonsillerne, var bakterien af kapsulær type b. Disse børn repræsenterede desuden den undergruppe af mindreårige tonsillitispatienter, der dels havde den betydeligste mangel på IgA plasmaceller i tonsillerne dels havde de laveste serum- og spyt IgA koncentrationer.

Mangel på IgE fluorescerende plasmaceller i tonsillerne var ligeledes hyppigere forekommende hos patienter, der var bærere af *H. infl.* og beta-hæmolytiske streptococcer sammenlignet med patienter, der var bærere af staph. aur. eller normal svælgflora, men forskellen mellem de to patientgrupper med henblik på IgE plasmacellemangel var ikke signifikant (Østergaard 1976). Lave serum IgE koncentrationer kunne heller ikke korreleres til vækst af patogene bakterier fra tonsillerne.

Det har tidligere været ventileret, at kombineret mangel på IgA og IgE var forbundet med en udpræget tilbøjelighed til

at udvikle recidiverende og kroniske luftvejsinfektioner (Ammann et al. 1970a). Polmar et al. (1975) samt Stites et al. (1975) kunne dog ikke påvise en øget infektionstendens hos patienter med kombineret IgA og IgE mangel. Tværtimod fandt disse forfattere, at patienter med selektiv IgA mangel og recidiverende øvre luftvejsinfektioner havde normale eller end- og forhøjede serum IgE koncentrationer.

Fundet af staph. aur. i de fjernede tonsiller hos børnene i nærværende undersøgelse var som anført forbundet med en normal forekomst af IgA plasmaceller i tonsillerne samt normale IgA koncentrationer i serum og blandingsspyt. Disse fund understreger antagelsen af, at staph. aur. i svelget sandsynligvis ikke er det egentlige infektionsfremkaldende agens, men snarere må betragtes som en saprofyt, der koloniserer på i forvejen beskadigede epitelmembraner. Lignende konklusioner er draget af andre ved undersøgelser af patienter med kronisk tonsillitis (Özek 1967) og industriarbejdere beskæftiget med kemisk irriterende materialer (Christensen et al. 1977).

Den normale "carrier rate" af beta-hæmolytiske streptococcer og af non-kapsulære H. infl. i svelget hos raske skolebørn er fundet noget varierende mellem 3 og 12 % (Masters et al. 1958, Turk 1963, Michaels et al. 1976), hvorimod carrier rate af H. infl. type b er fundet væsentlig lavere, nemlig ca. 0.8 % i lignende aldersgrupper (Turk 1963). Michaels et al. (1976) fandt dog ved svælgpodninger hos 1300 raske skolebørn en carrier rate af H. infl. type b på mellem 3 og 5 % og postulerede, at podninger fra svelget resulterer i en betydelig større forekomst af kapsulære H. infl. stammer end podninger fra næsen.

Selv om den høje frekvens af bærere af patogene bakterier i nærværende undersøgelser (Østergaard 1976) fra tonsillerne hos de tonsillektomerede børn ikke direkte kan sammenlignes med svælg- eller nasalpodninger i de ovennævnte undersøgelser, synes der dog at være en øget frekvens af bærere af patogene bakterier blandt patienter med kronisk tonsillitis.

Således fandt Kalbak (1942) ved podninger fra tonsillerne in situ hos voksne med kronisk tonsillitis, at godt 30 % af disse var bærere af beta-hæmolytiske streptococcer, og ved dyrkning af de fjernede tonsiller hos de samme patienter fandt forfatteren en frekvens af beta-hæmolytiske streptococcer på 67 %. Lignende fund er gjort af Özek (1967), og Donovan & Soothill (1973) fandt ved dyrkning fra de fjernede tonsiller hos 36 tonsillitisbørn ligeledes en høj frekvens af bærere af såvel beta-hæmolytiske streptococcer som af H. infl.

5. Efterundersøgelser af de yngre tonsillitispatienter

Disse børn blev efterundersøgt ca. 2 1/2 og 3 1/2 år efter tonsillectomi. 2 1/2 år efter tonsillectomi fandt man (Østergaard 1977a), at børnene fortsat havde lave og endog faldende IgA koncentrationer i serum. Ligeledes var serum IgG og IgM koncentrationerne faldet signifikant. Serum IgE koncentrationerne var fortsat lave bortset fra 3 børn, der i mellemtiden havde udviklet allergiske sygdomme. Spyt IgA koncentrationerne var steget noget hos nogle af de tidligere tonsillectomerede, hvilket måske var grunden til, at disse ikke længere var signifikant forskellige fra spyt IgA koncentrationerne hos en aldersrelateret kontrolgruppe af raske børn.

Ved den første efterundersøgelse påvistes der desuden patogene bakterier i svelget hos 3 af de 9 yngre tonsillectomerede børn, der på tonsillectomitidspunktet var bærere af H. infl. i tonsillerne. Hos de resterende 18 af de 27 børn, der deltog i denne efterundersøgelse påvistes der kun patogene bakterier i svelget hos en (Østergaard 1977a).

Ved efterundersøgelserne henholdsvis 2 1/2 og 3 1/2 år efter tonsillectomi (Østergaard 1977a, 1977c) fandtes der 4 sikre tilfælde af allergisk sygdom. Hertil kommer, som tidligere nævnt i denne oversigt (p. 16), 4 andre af de yngre tonsillitisbørn, der havde udviklet sandsynlig allergisk sygdom. 3 af de 7 børn, der på tonsillectomitidspunktet havde allergisk sygdom tilhørte ligeledes gruppen yngre tonsillitis-

børn. Det vil med andre ord sige, at ialt 11 eller 40 % af de yngre tonsillitisbørn havde eller senere udviklede allergisk sygdom. Det skal desuden pointeres, at 5 af disse 11 børn med sikker eller sandsynlig allergisk sygdom tilhørte gruppen af yngre tonsillitisbørn, der på tonsillectomitids-punktet var bærere af H. infl. i deres tonsiller. Som nævnt adskillige gange i denne oversigt, var det ligeledes denne undergruppe af yngre tonsillitisbørn, der dels oftest manglede IgA plasmaceller i de fjernede tonsiller dels havde de laveste IgA koncentrationer i serum og spyt.

Ved efterundersøgelsen 3 1/2 år efter tonsillectomi (Østergaard 1977c) påvistes der fortsat signifikant faldende serum IgG, IgM og IgA koncentrationer hos de tidligere tonsillectomerede børn - både set i relation til de initiale serumimmunglobulinkoncentrationer og i relation til serumimmunglobulinkoncentrationerne hos 3 forskellige grupper af raske, jævnaldrende børn. Resultaterne af serumimmunglobulinbestemmelserne hos patienter og kontrolbørn er summeret i Tabel 3.

Ved den nævnte efterundersøgelse 3 1/2 år efter tonsillectomi, hvor 24 af de oprindeligt 28 yngre tonsillitisbørn deltog, fandt man desuden, at disse havde et normalt antal cirkulerende T-celler samt et normalt antal perifere lymfocytter med membranbundet IgG, IgA, IgM og IgE bortset fra 3 patienter med allergisk sygdom, der havde et lavt antal cirkulerende T-celler og et højt antal lymfocytter med membranbundet IgE. Hos 10 af børnene, der havde særlig lave serum IgA koncentrationer, fandtes der desuden et normalt antal blastceller med cytoplasmatisk bundet IgG, IgA, IgM og IgE.

Disse fund er i overensstemmelse med Lawton et al.'s (1972) samt Buckley's (1975) undersøgelser af børn med IgA mangel, og disse forfattere har foreslået, at årsagen til, at børn med selektiv IgA mangel oftest har et normalt antal IgA membranocytter, muligvis er, at disse patienter har en "intrinsic" B-celle defekt - eller en manglende T-celle "hjelper" funktion med betydning for den terminale IgA produktion. Da flere af de her nævnte yngre tonsillitispatienten-

Table 3. Serum Ig-levels of the younger tonsillectomized patients and their controls in 1973, 1976 and 1977

Serum Ig-levels in IU/ml								
Patients				Controls				
IgG	IgA	IgM	IgE	IgG	IgA	IgM	IgE	
<u>1973</u>								
Range	70-194	21-123	57-242	57-907	96-214	45-156	42-192	10-260
Median	115	59.5	112	31.5	139	101	124	52
<u>1976</u>								
Range	69-149	17-114	56-167	17-1200	98-203	45-181	38-201	10-180
Median	101	51	90	39	145	106	135	58
<u>1977</u>								
Range	44-155	18-114	52-225	..	88-275	38-255	54-300	..
Median	90	41	64	..	125	82	110	..

.. Not Done

ter dels havde lave serum IgA koncentrationer dels havde eller senere udviklede allergiske sygdomme, og da både IgA mangel og høj IgE produktion samt udvikling af allergiske sygdomme muligvis har forbindelse med en thymus dysfunktion, vil disse forhold blive genstand for en mere indgående diskussion i det følgende afsnit om børn med astma bronchiale.

6. Tonsillerne som "eksternt" eller "internt" lymfoide organer

Som tidligere nævnt blev der hos de yngre tonsillitispatienter konstateret signifikant faldende serum IgG, IgA og IgM koncentrationer gennem en 3 1/2 år lang undersøgelsesperiode. Derimod var spyt IgA koncentrationerne 2 1/2 år efter tonsillektomi uændrede eller let stigende.

Årsagen til de faldende serumimmunglobulinkoncentrationer er ikke helt klar, men disse fund kunne antyde, at immunglobulinkoncentrationer i serum er mere afhængige af immunglobulindannelsen i tonsillerne end immunglobulinkoncentrationer i spyt. Denne hypotese er i nogen grad i modstrid med Ogra's (1971) undersøgelser af tonsillektomerede børn, idet denne fandt et fald i nasopharyngeale polio-IgA-antistoffer hos disse børn efter tonsillektomi, og dette titerfald var mere udpræget jo yngre børnene var ved tonsillektomiens udførelse. Undersøgelser af IgA koncentrationer i sekreter kan dog ikke direkte sammenlignes med IgA antistoftitre i sekreter. Bla. Waldman et al. (1970) har vist, at kun 3 ud af en gruppe på 8 astmapatienter var i stand til at danne normale mængder antistoffer i nasalsekret ved stimulation med nasalt appliceret influenzavirus - trods normale IgA koncentrationer i nasalsekretet hos disse patienter.

Den antydede teori om, at immunglobulinkoncentrationer i serum blandt andet er afhængig af en normal immunglobulinproduktion i tonsillerne, understøttes i nogen grad af immunhistokemiske undersøgelser af tonsilvæv, der alle har vist en betydelig dominans af IgG-holdige plasmaceller (Tourville et al. 1969, Tada & Ishizaka 1970, Østergaard 1975, Curran

& Jones 1977). Denne IgG dominans er ligeledes påvist i såkaldte "interne" lymfoepiteliale strukturer som milt og lymfeknuder (Bernier & Cebra 1965), hvorimod der konstant er påvist en dominans af IgA-holdige plasmaceller i overfladenære væv som tarmmucosa (Søltøft 1969, Baklien et al. 1972) og i bronchialmucosa (Tada & Ishizaka 1970).

De immunhistokemiske forhold i tonsillerne harmonerer derfor bedre med forholdene i lymfeknuder og milt, hvilket måske kan tages til indtægt for, at tonsillerne mere repræsenterer en "fremskudt" del af det interne, lymfoide system end de er en del af det overfladenære, immunologiske væv. Hvis dette er rigtigt, kan det i nogen grad synes betænkeligt at fjerne tonsillerne - specielt hos mindreårige børn - idet et sådant indgreb hos et ungt individ kunne tænkes at berøve organismen en væsentlig del af sin antigeninformation. Det må dog understreges, at nærværende undersøgelser kun repræsenterer en mindre gruppe af tonsillectomerede børn, og kun en formentlig årelang kontrol af en større gruppe af mindreårige, tonsillectomerede børn med henblik på måling af serum- og sekretimmunglobulinkoncentrationer vil kunne medvirke til at belyse dette spørgsmål nærmere.

B: PATIENTER MED ASTMA BRONCHIALE

1. Indledning

Den allergiske type 1 reaktion er karakteriseret ved at udløses hyperakut medieret af IgE antistoffer og forårsager kendte kliniske sygdomsbilleder som astma bronchiale, atopisk rhinitis, atopisk dermatitis, urticaria samt den anafylaktiske reaktion.

Man har længe vidst, at allergiske sygdomme viser en tendens til familiær ophobning (Spain & Cooke 1924), og ca. 15 % af en angelsaksisk eller skandinavisk population vil udvik-

le allergiske lidelser (Blair 1974, Godfrey & Griffiths 1976, Kjellman 1976). Ligeledes er det påvist, at hvis en af et forældrepar har allergisk sygdom, vil ca. 50 % af deres børn have risiko for at udvikle allergi - og hele 66 %, hvis begge forældrene har allergiske sygdomme (Kjellman 1976, Matthew et al. 1977).

Den hereditære baggrund for at udvikle allergiske sygdomme synes dog at være ret heterogen (Turner 1974). Mulige faktorer som manglende regulatorgener for IgE produktionen, visse vævstyper, nedsat eller manglende produktion af protektive slimhindeantistoffer samt en mulig T-celle dysfunktion synes alle at være medvirkende til udvikling af allergi (for oversigt, se Kjellman 1976). Selvom det er vist, at de fleste individer vil udvikle store mængder IgE antistoffer ved tilstrækkelig massiv og/eller langvarig kontakt med visse antigener som f.eks. parasitter (Bloch et al. 1974), er der vægtige grunde til at antage, at risikoen hos det enkelte individ for særlig let at danne IgE antistoffer afhænger af en særlig disposition til dette. Dette forhold afhænger sandsynligvis dels af individets evne til at afvise antigenet (allergenet) på slimhindeoverflader dels af individets evne til at eliminere antigenet, hvis det allerede har penetreret epitelet.

2. IgA, IgM og IgE ved astma bronchiale

Efter at det blev påvist, at IgA er det dominerende immunoglobulin i sekreter (Tomasi & Zigelbaum 1963) og i form af sekretorisk IgA sandsynligvis spiller en stor rolle for organismens forsvar mod udefra kommende fremmede antigener (Williams & Gibbons 1972, Tomasi & Grey 1972), fremkom der meddelelser om, at mange astmapatienter havde lave eller manglende IgA koncentrationer i serum (Kaufman & Hobbs 1970). Disse fund er stort set blevet bekræftet i andre undersøgelser af store astmapopulationer (Ferstl & Ferstl 1973) samt hos patienter med selektiv IgA mangel (Buckley 1975). IgM man-

gel i serum synes ligeledes at være ret hyppigt forekommende hos astmapatienter (Kaufman & Hobbs 1970) - måske hyppigst hos de astmapatienter, der også har eksem (Ilyés et al. 1972). Sidstnævnte forfattere fandt desuden, at selektiv IgA mangel var særlig hyppigt forekommende hos astmabørn, der også havde recidiverende øvre luftvejsinfektioner.

Evans et al. (1973) kunne dog ikke påvise IgA mangel hos 161 negerbørn med astma, men IgA mangel synes at være ret sjælden hos denne etniske gruppe (Buckley 1975). Ligeledes har voksne patienter med astma oftest normale serum IgA koncentrationer (Siegler & Citron 1974), og Kaufman & Hobbs (1970) postulerede, at voksne atopikere har kvalitativt dårligt fungerende IgA antistoffer. At dette måske er tilfældet, viste Stokes et al. (1974), der fandt, at voksne atopikere med positive cutantests over for Dermatophagoides farinae havde høje koncentrationer af IgE- og lave koncentrationer af IgA-antistoffer i serum mod denne husstøvmide, hvorimod det omvendte var tilfældet hos raske voksne med negative hudtests over for husstøvmiden. Waldman et al. (1970) samt Salvaggio et al. (1973) har ligeledes kunnet påvise et kvalitativt dårligt antistofrespons i nasalsekret mod henholdsvis influenzavirus og tetanus toksoid hos atopikere.

Der er således en del, der taler for, at nogle astmapatienter har en mangelfuld IgA dannelse af kvalitativ eller kvantitativ karakter. Østergaard (1977b) fandt ligeledes, at børn med moderat til svær astma bronchiale ofte havde lave koncentrationer af IgA i serum og blandingsspyt - ligesom der kunne påvises en betydelig mangel på IgA fluorescerende plasmaceller i A.V. hos flertallet af 11 mindreårige astmabørn, der fik foretaget adenoidectomi. Mange af de ældre astmabørn havde desuden ved den initiale undersøgelse lave serum IgM koncentrationer (Østergaard 1977b), og 2 1/2 år senere kunne det ligeledes vises, at de mindreårige astmabørn havde lave serum IgM koncentrationer (Østergaard 1977c).

3. IgA, IgM og IgE og tendens til luftvejsinfektioner hos børn med astma bronchiale

Det er velkendt, at mange astmapatienter i deres tidlige barndom har en betydelig frekvens af luftvejsinfektioner fremkaldt af virus (Minor et al. 1974, Mitchell et al. 1976) eller bakterier (Eisen 1969, McIntosh et al. 1973). Horn et al. (1975) fandt desuden, at børn med hyppige luftvejsinfektioner fremkaldt af virus ofte havde forældre og/eller søskende med allergiske sygdomme.

Kombineret IgA/IgM mangel hos flertallet af astmapatienterne i nærværende undersøgelser samt fundet af en høj "carrier rate" af potentielt patogene bakterier (hovedsagelig pneumococcer og non-kapsulære H. infl. stammer) hos de yngste astmapatienter (Østergaard 1977b, 1977c) antyder, at der hos visse grupper af børn med astma, kompliceret med en tendens til recidiverende luftvejsinfektioner, kunne foreligge en samtidig mangelfuld produktion af vigtige protektive slimhindeantistoffer af IgA og IgM type. Da IgA og IgE plasmaceller desuden synes at være særlig rigt repræsenteret i submucosa i nasopharynx (Tada & Ishizaka 1970), er det fristende at antage, at hyppige luftvejsinfektioner hos mindreårige børn med astmalignende anfald skyldes en mangelfuld lokal IgA- (og måske IgM-) produktion (kvalitativ eller kvantitativ), der bevirker øget penetration af mikroorganismer gennem luftvejsepitelet med påfølgende "overstimulation" af det IgE producerende, lymfoide væv i submucosa. På grund af det resulterende ødem i slimhinderne samt defekter i disse lettes muligvis penetrationen af andre antigener (allergener) gennem epitelet med påfølgende "kronisk" stimulation af IgE systemet og udvikling af respirationsvejsallergi.

Der er dog flere forhold, der taler for, at denne fremstilling er en oversimplificering af de sandsynligvis ret komplekse mekanismer, der bevirker udvikling af respirationsvejsallergi. Således repræsenterer både de nærværende samt

tidligere omtalte astmapatienter med IgA og IgM mangel ret betydeligt selekterede patientgrupper, der var henvist til undersøgelse grundet sygdomssymptomer. Derimod har man blandt uselekterede børn (Collins-Williams et al. 1972) samt hos voksne bloddonorer (Koistinen 1975) fundet en incidens af IgA mangel på ca. 0.2 %, og de fleste af disse individer frembød ikke tegn på øget sygdomsintensitet. Sidstnævnte forfatter (Koistinen & Sarna 1975) fandt dog ved en nærmere undersøgelse af de 163 personer, der i denne bloddonorundersøgelse havde selektiv IgA mangel, en betydelig forekomst af antiimmunglobulinantistoffer.

At nogle individer med selektiv IgA mangel ikke frembyder tegn på øget infektionstendens skyldes måske, at IgM hos disse kan vikariere for IgA i lamina propria og sekreter (Brandtzaeg et al. 1968, Stocker et al. 1968, Savilahti 1973). At der som nævnt både i nærværende samt i andre undersøgelser er fundet relativt mange astmapatienter med lave serum IgM koncentrationer, kan derfor måske tages til indtægt for, at nogle af disse patienter, kombineret med IgA mangel, ligeledes har en mangel på slimhindeprotektive IgM antistoffer. Således var det f.eks ikke muligt i nærværende undersøgelser af astmabørn (Østergaard 1977b) - ej heller hos en enkelt patient, der hverken havde IgA i serum eller spyt - at påvise eventuelt "kompensatorisk" IgM.

4. Neutrofil granulocytfunktion og allergisk sygdom

Selv om en vurdering af de neutrofile granulocytters funktion ikke har været genstand for undersøgelser hos nærværende astmapatienter, synes det dog at være rimeligt med hensyn til de ret komplekse ætiologiske og patogenetiske mekanismer, der ligger bag udviklingen af allergiske sygdomme, at nævne, at nogle atopikere synes at have en nedsat evne til at eliminere visse antigener via deres neutrofile granulocytter.

Bellanti & Green (1971) fremsatte den hypotese, at hvis eliminationen af fremmede antigener via de neutrofile granulocytter ikke var tilstrækkelig effektiv eller hurtig, kunne denne "persistence of antigen" i individets organisme måske medføre overstimulation af immunapparatet med påfølgende risiko for en udvikling af allergiske, autoimmune eller maligne, lymfoproliferative lidelser. Forfatteren udbyggede senere denne teori med undersøgelser, der viste, at leucocytter hos patienter med pollenallergi var betydeligt længere om at eliminere Cl4 mærket ragweed pollen in vitro end leucocytter fra raske individer (Bellanti 1974). Forfatteren fandt, at teorien blev støttet af de ikke sjældent ekstremt høje serum IgE koncentrationer hos patienter med Wiskott-Aldrich syndrom, der undertiden har en defekt fagocytosefunktion af deres neutrofile granulocytter (Waldmann et al. 1972). Senere viste Hill et al. (1976), at neutrofile granulocytter hos nogle høfeberpatienter havde et dårligt kemotaktisk respons over for E. coli antigen.

5. Lav IgA- og høj IgE produktion samt T-celle dysfunktion hos allergiske patienter

Patienter med Wiskott-Aldrich syndrom har dog også ofte en defekt T-cellefunktion, og der er efterhånden vægtige data både af eksperimentel karakter samt fra den humane klinik, der taler for, at såvel IgA- som IgE dannelsen i nogen grad må være afhængig af tilstedeværelsen af normale T-celler. Det er således vist, at både den initiale som den terminale IgE produktion hos rotter kræver normale T-celler (Okumura & Tada 1971, Tada 1976, Wanatabe et al. 1976). Clough et al. (1971) har desuden vist, at neonatal thymectomi på kaniner kan føre til selektiv IgA mangel hos disse dyr, og Cooper (1975) fandt, at denne IgA mangel kunne hæves igen ved thymustransplantation.

Fra den humane klinik er der rapporteret en del tilfælde

hos børn med hyperimmunglobulinæmi E i serum i forbindelse med thymuslymfoplasi (Kikkawi et al. 1973) eller nedsat cellemedieret immunitet i forbindelse med en defekt funktion af de neutrofile granulocytter (Buckley 1972, Church et al. 1976). Der er ligeledes meddelt flere tilfælde af selektiv IgA mangel hos børn med thymusaplasti (Ammann et al. 1970b, Schlegel et al. 1970).

Der er derfor en del, der taler for, at både nedsat IgA dannelse og høj IgE produktion delvis skal søges i en defekt thymusfunktion. En sådan sammenhæng understøttes af meddelelser om, at mange patienter med atopisk dermatitis har et nedsat antal cirkulerende T-celler og/eller defekte T-celle effektorfunktioner (Luckasen et al. 1974, Andersen & Hjorth 1975, McGeedy & Buckley 1975). Strannegård et al. (1976) fandt desuden hos astmapatienter, der ofte havde komplicerende eksem, at antallet af T-celler hos disse var omvendt relateret til sygdommens sværhedsgrad. Sidstnævnte er i overensstemmelse med Hovmark's (1975) undersøgelser, der viste, at nogle astmapatienter havde nedsat "delayed reaction" mod flere intradermale antigener.

I nærværende undersøgelser af en gruppe børn med astma, ofte kompliceret med eksem og/eller allergisk rhinitis (Østergaard 1977c) blev der fundet, at disse patienter havde betydeligt nedsatte IgA koncentrationer i serum og blandingspyt samt høje serum IgE koncentrationer. Patienterne havde desuden et højt antal lymfocytter i perifert blod med membran- og cytoplasmatiske bundet IgE.

At høje serum IgE koncentrationer kan være forbundet med et højt antal cirkulerende lymfocytter med membranbundet IgE er tidligere vist hos patienter med atopisk dermatitis (Schoeph & Boehringer 1974), men disse patienter havde ikke lave serum IgA koncentrationer. Saha et al. (1975) fandt dog hos en gruppe patienter med astma, at lav eller manglende IgA koncentration i serum påfaldende ofte var ledsaget af høje serum IgE koncentrationer. Dette var dog ikke tilfældet hos en gruppe astmapatienter publiceret af Grove et al. (1975).

Selv om ovennævnte undersøgelser således ikke er entydige, synes de dog at pege i retning af, at nogle individer med astma har en reduceret funktion af deres T-celler, og at T-celledefekter hos disse patienter kan forårsage en lav IgA dannelse og/eller en høj IgE produktion. Den lave IgA dannelse og den høje IgE produktion hos en og samme patient behøver dog ikke nødvendigvis at være forårsaget af den samme T-celle subpopulation. Det er således muligt, omend fortsat spekulativt, at selektiv IgA mangel hos nogle allergiske patienter kan være et resultat af en isoleret mangel på og/eller dysfunktion af en enkelt T-celle subpopulation, hvorimod kombineret lav IgA dannelse og høj IgE produktion hos andre allergiske patienter kunne være en følge af en mere udpræget T-celle dysfunktion - måske omfattende flere T-celle subpopulationer.

At et lavt antal cirkulerende T-celler og/eller en T-celle dysfunktion på en eller anden måde spiller en rolle for patogenesen til allergiske sygdomme understreges bl.a. af et publiceret tilfælde hos et barn med svær astma og atopisk dermatitis (Strannegård et al. 1975). Hos dette barn resulterede indgift af transfer faktor i en betydelig stigning i antallet af cirkulerende T-celler, et fald i serum IgE samt en dramatisk reduktion af de kliniske symptomer.

AFSLUTTENDE BEMÆRKNINGER

Det kan på basis af ovennævnte undersøgelser konkluderes, at der hos nogle børn med svær recidiverende og kronisk adenotonsillitis og/eller astma bronchiale kan påvises betydeligt reducerede koncentrationer af IgA i serum og blandings-spyt. Reducerede IgA koncentrationer i sekret er sandsynligvis en medvirkende årsag til den i dette arbejde påviste høje "carrier rate" af potentielt patogene bakterier i svelg og tonsiller hos de undersøgte patienter. Yderligere synes

nærværende undersøgelsesresultater at antyde, at tendensen til samtidig at udvikle kronisk tonsillitis og astma bronchiale hos børn kunne være forårsaget af en mangelfuld IgA dannelse. Sidstnævnte vil formentlig være medvirkende til en øget infektionstendens, og det resulterende mucosaødem samt påfølgende epiteldefekter kunne dernæst lette penetrationen af potentielle allergener gennem slimhinden med mulighed for at stimulere submucøst lokaliseret IgE producerende lymfoidt væv.

Udover en mangelfuld produktion af IgA antistoffer synes både nærværende samt andres undersøgelsesresultater at pege i retning af, at nogle af disse patienter ligeledes har en thymusdysfunktion, der sandsynligvis bevirker en mangelfuld undertrykkelse af en abnorm høj IgE produktion. Ligeledes synes andres undersøgelser af nogle patienter med respirationsvejsallergi at antyde, at disse har en defekt kemotaktisk funktion af deres neutrofile granulocytter, hvilket sammen med nedsat IgA dannelse og/eller et reduceret antal af suppressor T-celler kunne tænkes at resultere i en nedsat elimination af fremmede antigener og mulighed for en abnorm stimulation af det IgE producerende væv.

Selv om de nævnte undersøgelsesresultater endnu ikke er konklusive, synes det at være rationelt dels at fortsætte undersøgelser af allergiske patienter efter ovennævnte retningslinjer dels at tilbyde patienter med en ihvertfald årelang anamnese med hensyn til allergiske sygdomme en evaluering af deres immunfunktioner. I denne forbindelse vil det forskningsmæssigt være hensigtsmæssig at opdele disse patienter efter sygdomsmanifestationer (astma, rhinitis eller dermatitis) i håb om at kunne belyse, om visse immundefekter særlig hyppigt optræder hos børn med enten astma eller rhinitis eller atopisk dermatitis, idet hidtidige immunologiske undersøgelser af disse børn ikke har taget hensyn til en sådan opdeling. Endelig vil man foreslå, at alle børn med svær kronisk tonsillitis tilbydes en undersøgelse af deres spyt IgA koncentration, da nærværende undersøgelser antyder, at lav spyt IgA koncentration hos sådanne patienter ikke sjældent forudgår udviklingen af respirationsvejsallergi.

SUMMARY

INTRODUCTION

This thesis is a survey of eight previously published articles on studies in two groups of children, one with chronic tonsillitis and recurring episodes of acute tonsillitis, the other group with bronchial asthma. The purpose of the study was to investigate, whether a mutual immunodeficiency existed in the two groups of patients, as earlier investigations in similar patients have disclosed that the development of bronchial asthma often occurs in children with chronic tonsillitis and vice versa.

CHAPTER I

A semiquantitative, immunohistochemical method of detection of IgG-, IgA-, IgM- and IgE-containing plasma cells in sections from adenoids and tonsils is described in this chapter. Tonsils and adenoids from the patients were stored in 0.9 % saline at a maximum of one hour at 4° C before they were frozen at - 70° C in 15 per cent gelatine and stored at that temperature until further preparation.

Commercially purchased rabbit-anti-human immunoglobulin sera labelled with FITC were used in the studies, and blocking test were carried out by exposing the sections to unlabelled rabbit-anti-human-albumin- and immunoglobulins before the sections were incubated with FITC-labelled antiimmunoglobulin sera. Before the examination of the preparations with the labelled antisera, sections stained with methyl pyronine green were made with a view to identification of plasma cells, and to ensure that the tissue was cut from epithelial and subepithelial areas containing cells morphologically resembling plasma cells.

The FITC-labelled preparations were examined by dark field fluorescence microscopy (Leitz Orthoplan photomicroscope) using a HBO 200 w ultraviolet high pressure mercury lamp and various interference filters. As a quantitative estimation of plasma cells cannot be performed by this technique, a semiquantitative estimation was aimed at by cutting sections of approximately 5 x 5 mm and subsequently counting all the fluorescing plasma cells in this area, and the results are recorded as 0 to +++++.

IgG- and next IgA-fluorescing plasma cells were found to be most numerous in tonsil sections, whereas IgM- and IgE plasma cells appeared to be more scattered in the tissue and were estimated to be ten times less frequent than the occurrence of IgG- and IgA plasma cells. These results are in accordance with the results obtained by other investigators in studies of plasma cells of human adenoids and tonsils. The shortcomings, however, of previous investigations as well as of the present study is the lack of control material consisting of adenoid and tonsil tissue from healthy children.

CHAPTER II

A sensitive electroimmuno technique for quantitation of IgG, IgA and IgM in serum and whole saliva is presented in this chapter. In particular the difficulties in determining immunoglobulin levels in secretions, e.g. the influence of salivary flow rate on the protein concentrations in saliva and the possibility of contamination of saliva by serum proteins are discussed. Generally, the patients and controls studied had an inspection of their oral cavity to ensure that inflammatory processes of the mouth were not present, and, furthermore, the samples of whole saliva were always tested with haemastix for blood contamination and found negative. However, as such measures are not sufficient to ensure that a leak of serum immunoglobulins to secretion has not occurred, estimations of serum- and saliva albumin were performed simultaneously with the determination of serum- and saliva IgG and IgA in ten healthy children. In that way it was shown that nearly 60

per cent IgG and 98 per cent IgA presumably originated in locally produced IgG and IgA.

In the present study, a serum IgA standard was used for the determination of salivary IgA. This implies an underestimation of the actual IgA concentration in secretion, as only IgA not connected to secretory component is estimated. On the other hand, investigations of salivary IgA in healthy children at various times during the day revealed only slight intra-individual variations.

CHAPTER III

In this chapter, the method used in studies of rosette-forming cells (T-cells) and of IgG-, IgA-, IgM- and IgE-bearing peripheral lymphocytes (B-cells) are presented. Peripheral lymphocytes for determination of B- and T-cells were isolated on a Ficoll-Isopaque gradient. In order to increase the number of T-cells, sheep red blood cells (SRBC) were pretreated with papain, and, furthermore, human AB serum (heat-inactivated and absorbed with SRBC) was added to the lymphocytes and SRBC. The percentages of T-cells were evaluated in a haemocytometer, and lymphocytes with three or more surface bound SRBC were counted as rosettes. In healthy children, a median of 70 per cent T-cells was found.

For the determination of B-cells, commercially purchased FITC-conjugated IgG-, IgA-, IgM- and IgE-antisera were used. Before staining the cells with specific FITC-labelled antiimmunoglobulin sera, the lymphocytes were preincubated with latex to label contaminating monocytes - and at 37° C for 30 minutes in order to avoid capping of the Fc fragments of IgG, the latter known to bring about a substantial, but not genuine, increase in IgG-bearing lymphocytes. A median of B-cells of 15 per cent was demonstrated in healthy children, and most B-cells found had IgM-membrane fluorescence.

CHAPTER IV

The method of evaluation of IgG-, IgA-, IgM- and IgE-containing blast cells in patients and healthy controls after pokeweed mitogen (PWM) stimulation of peripheral lymphocytes in vitro is reported. Lymphocytes from 20 healthy children and from 20 patients with low IgA levels in serum were cultured with ten per cent autologous serum at 37° C for seven days in the presence or absence of PWM. A stimulative dose of PWM (diluted 1:100 in RPMI 1640 medium) between 6 and 20 microliter per lymphocytic culture (1×10^6 cells per ml) resulted in a maximum of proliferating blast cells. In healthy children, a median of 2.5 per cent stained for IgG, 1.5 per cent for IgA, 8.5 per cent for IgM and 1.5 per cent for IgE.

CHAPTER V

A short presentation of the methods used in collecting and transporting tonsillar tissues and swabs from the patients for culture of pathogenic bacteria is given in this chapter. The sterile removed tonsils were within one hour brought to the Department of Microbiology, and a section of about 1 x 1 mm of the tonsils was minced with sterile scissors and spread onto blood agar and chocolate agar plates. Incubation was at 35° C aerobically and anaerobically, and the plates were read after 24 and 48 hours. As regards the throat swabs, they were spread onto agar plates within half an hour being taken and cultured as described above.

CHAPTER VI

The 52 patients with chronic tonsillitis and the 54 patients with bronchial asthma investigated are presented in this chapter. In the patients with tonsillitis, 73.5 per cent was

referred for tonsillectomy because of hypertrophy of the tonsils often associated with fever and frequently occurring episodes of tonsillitis. The 52 patients with tonsillitis were divided into two groups according to age: 28 children, four to nine years, and 24 children, ten to fifteen years of age. At the time of tonsillectomy, four of the older and three of the younger children obviously suffered from allergic diseases, and, furthermore, eight of the younger children obviously or probably did develop atopic diseases 2 1/2 and 3 1/2 years after tonsillectomy was performed (Table 2, p. 16a).

The 54 children with asthma were also divided into two groups: 32 children with a history of recurring respiratory tract infections with fever often associated with asthma (Group 1 patients, median age 5 1/12 years), and 22 patients without frequently occurring respiratory tract infections (Group 2 patients, median age 11 1/12 years/. In Group 1 as well as Group 2 patients, atopic diseases were found among the closest relatives in 77 per cent. In addition, 59 per cent Group 1 patients and 61 per cent Group 2 patients had had an adenoidectomy and/or tonsillectomy performed during - or before - the present study.

CHAPTER VII

In this chapter the clinical, bacteriological and immunological findings in the patients are recorded.

A. PATIENTS WITH TONSILLITIS

In these patients, a lack of IgE plasma cells of 60 per cent and a lack of IgA plasma cells of 30 per cent in tonsillar sections was the most prominent findings. The lack of IgA plasma cells was most common in the younger age group, while the marked deficiency in IgE plasma cells appeared more regularly in the series as a whole.

Studies of the immunoglobulin levels at the time of the o-

peration revealed that serum IgA was low in many of the patients with a median of 65 IU/ml, a difference which, compared to a median of 103 IU/ml in the healthy controls, was highly significant. In addition, serum IgE levels were significantly reduced in the patients compared to the IgE levels in the controls (35 and 64 IU/ml, respectively), and, furthermore, significantly decreased saliva IgA levels as compared to the saliva IgA levels of the healthy controls were seen (3.7 and 4.9 IU/ml, respectively). As regards serum IgG- and IgM levels, these were within the same range as that in the controls. However, a comparison of serum- and saliva IgA within the various age groups of the patients and controls revealed that the significant decrease in IgA levels was only found in the four to nine year old patients, whereas the reduced serum IgE levels observed were more evenly distributed among the patients.

At the time of tonsillectomy, eleven patients harboured Haemophilus influenzae (H. infl.) in their tonsils, and 6 of the H. infl. strains were of capsular type b. Twenty-four patients harboured beta-haemolytic streptococci, 7 patients Staphylococcus aureus (Staph. aur.), and the remaining ten patients had normal bacterial flora. Among the beta-haemolytic streptococcal strains, 16 belonged to Lancefield's group A. Finally, Staph. aur. were found together with H. infl. and beta-haemolytic streptococci in several patients.

It was shown that the considerable lack of IgA plasma cells in the tonsils was connected with carriage of beta-haemolytic streptococci and H. infl. On the contrary, there was no such correlation between lack of IgE plasma cells in tonsillar tissue and bacterial culture types. In addition, a low IgA content in serum was also consistent with isolation of H. infl. and beta-haemolytic streptococci from the removed tonsils, but this was not the case in patients with decreased IgE levels. Finally, culture of Staph. aur. or normal bacterial flora was not correlated with low serum IgA levels or lack of IgA plasma cells in tonsillar tissue.

2 1/2 years after performance of tonsillectomy, serum- and saliva immunoglobulin levels and a possible carrying of

pathogenic bacteria in the throat were evaluated in 27 of the younger tonsillectomized children. Many of the 27 children still had low serum IgA and IgE levels as compared to levels in healthy age-related controls. In 3 patients, however, the IgE levels in serum had risen considerably parallel with the development of atopic diseases. Saliva IgA was rather constant after tonsillectomy as compared to the preoperative levels, though it had increased in some of the children. As regards serum IgG and IgM, these immunoglobulins had decreased significantly.

Twenty-two of the former patients had no longer complaints of recurring respiratory tract infections, and they all harboured normal bacterial flora in their throats. However, in the remaining 5 patients, respiratory tract infections still were frequent, and 3 of them harboured pneumococci and 1 H. infl. (non-capsular strain). Furthermore, in all these 5 children, IgA as well as IgE plasma cells were lacking in the excised tonsils 2 1/2 years previously, and in addition, it was observed in this particular group of children that serum IgA as well as serum IgE levels and saliva IgA levels would be low prior to as well as 2 1/2 years after tonsillectomy.

Studies on serum IgG, IgA and IgM, and the number of circulating T- and B-cells were performed in 24 of the younger children 3 1/2 years after tonsillectomy. Furthermore, in ten of these children with very low serum IgA levels, the number of IgG-, IgA-, IgM- and IgE-containing blast cells after PWM-stimulation of peripheral lymphocytes in vitro was evaluated. Low IgA levels were continuously found in these children as compared to healthy age-related controls, and, in addition, a further significant decrease in serum IgA as well as in serum IgG and IgM levels had appeared in the patients (Table 3, p. 25a). Another child had developed obvious atopic disease, and in another four of these children, probably allergic diseases had appeared (Table 2, p. 16a). In three of the patients with obvious or probable atopic diseases, a low number of circulating T-cells and an increased number of peripheral lymphocytes with membrane-bound IgE was observed. Otherwise normal lymphocyte subpopulations as well as normal IgG-, IgA-,

IgM- and IgE-containing blast cells were found in the children.

The hypothesis is raised that decreased levels of serum- and saliva IgA influences the increased tendency of pathogenic bacteria to adhere to and colonize on mucosal surfaces. Maybe this facilitates the entrance of bacteria through the epithelium giving rise to acute exacerbations of infections, mucosal oedema and an increased penetration of potential allergens through the mucosa resulting in an overstimulation of submucosal IgE-B-cells and subsequently the development of allergic diseases.

Finally, it is discussed, whether the decrease in serum Ig-levels after the operation is due to removal of chronically infected tonsils or to the removal of important immunological tissue, the latter resulting in a decreased microbial stimulation of "internal" lymphoid tissue.

B. PATIENTS WITH BRONCHIAL ASTHMA

These patients were evaluated during their admission to hospital, and were further seen in view of an reexamination one and two years, respectively, after their discharge from hospital. On admission, 74 per cent Group 1 patients harboured presumably pathogenic bacteria in their throats, but it should be stressed that most of these patients were admitted to the hospital because of acute respiratory tract infections in connection with symptoms of bronchial asthma. The overall dominating pathogens were non-capsulated H. infl. strains (40 per cent) and pneumococci (31 per cent). During admission, none Group 2 patients offered signs of infections. However, 21 per cent harboured pneumococci in their throats.

At reexamination one year after their initial admission to hospital, 29 and 6.5 per cent Group 1 patients, respectively, harboured pneumococci and non-capsulated strains of H. infl. in their throats. As regards Group 2 patients, 14 per cent harboured pneumococci. At the first reexamination, a very low median of serum- and saliva IgA (27 and 1.8 IU/ml,

respectively) was seen in Group 1 patients as compared to healthy controls (85 and 3.8 IU/ml, respectively). In addition, low serum- and saliva IgA levels (median 67 and 3.1 IU/ml, respectively) were obtained in Group 2 patients which, compared to a median of 85 and 5.5 IU/ml, respectively, in their healthy controls, was significant. Furthermore, in Group 1 as well as Group 2 patients, an increased serum IgE level of 200 and 725 IU/ml, respectively, was found. In Group 2 patients, unlike Group 1 patients, a significantly decreased median serum IgM of 67 IU/ml was shown, whereas normal serum IgG levels were seen in both groups of patients. Finally, immunofluorescent studies, performed on adenoids removed from 11 Group 1 patients, revealed that IgA plasma cells were absent in 5 of these.

At the second reexamination, the low serum IgA levels initially observed in the patients were confirmed. In addition, on that occasion significantly low serum IgM levels were obtained in Group 1 as well as in Group 2 patients (69 and 72 IU/ml, respectively). Furthermore, studies on lymphocyte subpopulations of peripheral blood showed a low percentage of circulating T-cells in both groups of patients (median 53 and 57 per cent, respectively). As regards the different Ig-bearing lymphocytes, a significantly increased number of IgA- and IgE-bearing cells were seen in Group 1 patients (3.0 and 3.0 per cent, respectively), whereas only an increase of IgE-bearing lymphocytes was found in Group 2 patients (median 3.5 per cent). With regard to circulating lymphocytes with membrane-bound IgG and IgM, no difference between patients and controls was observed, and studies on PWM-stimulated lymphocytic cultures obtained from ten Group 1 patients with very low serum IgA levels, only showed a significant increase in IgE-containing blast cells (median 3.0 per cent).

It is discussed, whether the low number of T-cells found in connection with a high number of IgE-bearing- and containing peripheral lymphocytes may be due to a deficient T-cell suppressor function on the synthesis of IgE antibodies. Furthermore, in the younger patients with asthma, the increased number of IgA-bearing lymphocytes may be due to a compensatory increase caused by a negative feed-back mechanism associated with the

low IgA levels found, and the question is raised, whether the decreased IgA levels in these patients may be due to a regulatory, intrinsic IgA-B-cell defect or to a reduced T-cell helper function on the proliferation of IgA-B-cells in vivo to actively IgA secreting blast cells. Finally, whether the observed deficiency in IgA (and/or IgM) may contribute to an increased epithelial penetration of potential allergens in the respiratory tract of such patients.

LITTERATURLISTE

- Ammann, A.J., J. Roth & R. Hong: J. Pediat. 1970a, 77: 802. (23)
- Ammann, A.J., H.J. Meuwissen, R.A. Good & R. Hong: Clin. exp. Immunol. 1970b, 7: 343. (33)
- Andersen, E. & N. Hjorth: Acta Dermato-Ven. 1975, 55: 345. (2, 33)
- Baklien, K., P. Brandtzaeg, O. Fansa & E. Gjone: Scand. J. Gastroent. 1972, suppl. 16: 13. (27)
- Bellant, J.A. & R.E. Green: Lancet 1971, II: 526. (32)
- Bellant, J.A.: The Biological Role of the Immunoglobulin E System. Eds. Ishizaka, K. & D.H. Dayton, Bethesda, Maryland, U.S.A. 1974, 259-265. (32)
- Bernier, G.M. & J.J. Cebra: J. Immunol. 1965, 95: 246. (27)
- Blair, H.: Clin. Allergy 1974, 4: 389. (28)
- Block, K.J., R.W. Cygan & J. Walten: The Biological Role of the Immunoglobulin E System. Eds. Ishizaka, K. & D.H. Dayton, Bethesda, Maryland, U.S.A. 1974, 119-132. (28)
- Van Boxel, J.A., W.E. Paul & W.D. Terry: J. Immunol. 1972, 109: 648. (19)
- Brain, P.J., J. Gordon & W.A. Willets: Clin. exp. Immunol. 1970, 6: 681. (8)
- Brandtzaeg, P., I. Fjellanger & S.T. Gjeruldsen: Science 1968, 160: 789. (31)
- Brandtzaeg, P.: Acta path. microbiol. scand. Sect. B 1971a, 79: 165. (6)
- Brandtzaeg, P.: Clin. exp. Immunol. 1971b, 8: 69. (6)
- Broom, B.C., E.G. De La Concha, A.D.B. Webster, G.J. Janossi & G.L. Asherson: Clin. exp. Immunol. 1976, 23: 73. (13)
- Buckley, R.H., B.B. Wray & E.Z. Belmaker: Pediatrics 1972, 59. (33)
- Buckley, R.H.: Births Defects: Orig. Art. Ser. 1975, 11: 134. (2, 25, 28, 29)

- Chapel, H.M.: Transplantation 1973, 15: 320. (9)
- Christensen, P., B. Haeger-Aronsen, C. Kamma, N. Nielsson & H. Welinder: Scand. J. Infect. Dis. 1977, 9: 27. (23)
- Church, J.A., L.D. Frenkel, D.G. Wright & J. Bellanti: J. Pediat. 1976, 88: 982. (33)
- Clough, J.D., L.H. Mims & W. Strober: J. Immunol. 1971, 106: 1624. (2, 32)
- Collins-Williams, C., H.L. Kokubu, C. Lamenza, R. Nizami, A.W. Chiu, C. Lewis-McKinley, T.A. Comerford & E.A. Varga: Ann. Allergy 1972, 11. (31)
- Coombs, R.R.A., A. Feinstein & A.B. Wilson: Lancet 1969, II: 1157. (12)
- Cooper, M.D.: Births Defects: Orig. Art. Ser. 1975, 11: 143, (32)
- Crabbé, P.A. & J.F. Heremans: Lab. Invest. 1967, 16: 112. (5, 19)
- Curran, R.C. & E.L. Jones: Clin. exp. Immunol. 1977, 28: 103. (5, 26)
- Deuschl, H. & S.G.O. Johansson: Clin. exp. Immunol. 1974, 16: 401. (7, 8)
- Donovan, R., S.G.O. Johansson, H. Bennich & J.F. Soothill: Int. Arch. Allergy 1970, 37: 154. (7)
- Donovan, R. & J.F. Soothill: Clin. exp. Immunol. 1973, 14: 347. (1, 21, 24)
- Eisen, A.H.: Pediat. Clin. N. Am. 1969, 16: 67. (30)
- Evans, H.E., I. Mandl & L. Glass: Am. Rev. Resp. Dis. 1973, 108: 672. (29)
- Falk, P. & W. Mootz: Acta Otolaryngol. (Stockh.) 1973, 75: 85. (18)
- Farid, N.R., R.E. Munro, W.W. Row & R. Volpe: New Engl. J. Med. 1973, 229: 1111. (9)
- Farrant, J. C.A. Walter & J.A. Armstrong: Proc. roy. Soc. B (Lond.) 1968, 168: 293. (4)
- Feldman, G., B. Koziner, R. Talamo & K.J. Bloch: J. Pediat. 1975, 87: 534. (11)

- Ferstl, A. & G. Ferstl: Wien Z. inn. Med. 1973, 54: 333. (28)
- Findeisen, E. & D.G.R. Findeisen: Allergie u. Asthma 1966, 12: 278. (1)
- Godfrey, R.C. & M. Griffiths: Clin. Allergy 1976, 6: 79. (28)
- Grey, H.M., E. Rabbellino & E. Pirofsky: J. Clin. Invest. 1971, 56: 2368. (11)
- Grove, D.I., T.O. Burston, M.L. Wellby, R. Munro Ford & I.J. Forbes: J. Allerg. Clin. Immunol. 1975, 55: 152. (33)
- Hanson, L.Å. & P. Brandtzaeg: Immunologic Disorders in Infants and Children. Eds. Stiehm, E.R. & V.A. Fulginiti. W. B. Saunders Company, Philadelphia, London, Toronto 1973, 107-126. (6)
- Henney, C.S. & R.H. Waldman: Science 1970, 169: 696. (19)
- Hill, H.H., P. Brock Williams, G.G. Krueger & B. Janis: Ann. Int. Med. 1976, 85: 39. (32)
- Horn, M.E.C., E. Brain, I. Gregg, S.F. Yealland & J.M. Inglis: J. Hyg. 1975, 74: 157. (30)
- Hovmark, A.: Acta Dermato-Ven. 1975, 55: 181. (33)
- Humphrey, J.H. & I. Batty: Immunochemistry 1974, 11: 759. (7)
- Hurtado, R.C., M. Rola-Plezczyński, M.A. Merida, S.A. Henson, M.C. Vincent, I.H. Thong & J.A. Bellanti: J. Pediat. 1975, 86: 405. (19)
- Ilye's, M. P. Osvath, M. Kaltay & M. Bernatsky: Anal. Immunol. Hung. 1972, 16: 183. (29)
- Johansson, S.G.O., H. Bennich & L. Wide: Immunology 1968, 14: 265. (8)
- Jondal, M., G. Holm & H. Wigzell: J. exp. Med. 1972, 136, 207. (8, 9)
- Jondal, M.: Scand. J. Immunol. 1974, 3: 739. (9)
- Jondal, M. & H. Pross: Int. J. Cancer 1975, 15: 596. (9)
- Kaji, H. & R.M.F. Parkhouse: Nature (Lond.) 1974, 249: 45. (6)

- Kalbak, K.: Experimentelle og Kliniske Undersøgelser over O-Streptolysin og Forekomsten af O-Streptolysin i Serum. Ed. E. Munksgaard, Copenhagen, 1942, 84. (1, 24)
- Kaufman, H.S. & J.R. Hobbs: Lancet 1970, II: 1061. (2, 28, 29)
- Kikkawi, Y., K. Kamimura, T. Hamajima, T. Sekiguchi, T. Kawai, M. Taneka & T. Tada: Pediatrics 1973, 51: 690. (33)
- Kjellman, N.-I.M.: Immunoglobulin E and Atopic Allergy in Childhood. Ed. The Medical Faculty, University of Linköping, Sweden, 1976, 40-43. (28)
- Koburg, F.: Med. Welt 1966, 38: 2000. (18)
- Koistinen, J.: Vox Sang. 1975, 29: 192. (31)
- Koistinen, J. & S. Sarna: Vox Sang. 1975, 29: 203. (31)
- Laurell, C.-B.: Anal. Biochem. 1966, 15: 45. (5)
- Lawton, A.R., S.A. Royal, K.S. Self & M.D. Cooper: J. Lab. Clin. Med. 1972, 80: 26. (10, 11, 25)
- Lay, W.H., N.F. Mendes & C. Bianco: Nature (Lond.) 1971, 230: 531. (19)
- Lindh, E.: J. Immunol. 1975, 114: 284. (6)
- Lobo, P.I., F.B. Westervelt & D.A. Horwitz: J. Immunol. 1975, 116. (11, 12)
- Lowe, C.W., D. Alexander & B. Mishkin: J. Pediat. 1974, 84: 468. (18)
- Luckasen, J.A., A. Sabad, R.W. Goltz & J.H. Kersey: Arch. Derm. 1974, 110: 375. (2, 33)
- Masters, P.L., W. Brumfitt & R.L. Mendez: Brit. Med. J. 1958, 1: 1200. (23)
- Matthew, D.J., A.P. Norman, B. Taylor, M.W. Turner & J.F. Soothill: Lancet 1977, I: 321. (28)
- McGeady, S.J. & R.H. Buckley: J. Allergy Clin. Immunol. 1975, 56: 393. (2, 33)
- McIntosh, K., E.F. Ellis, L.S. Hoffman, T.G. Lybass, J.J. Eller & V.A. Fulginiti: J. Pediat. 1973, 82: 578. (30)
- Michaels, R.H., C.S. Poziviak, F.E. Stonebraker & C.W. Norden: J. Clin. Microbiol. 1976, 4: 413. (23)

- Minor, T.E., J.W. Baker, E.C. Dich, A.N. De Meo, J.J. Quelette, M. Cohen & C.E. Reed: J. Pediat. 1974, 85: 472. (1, 30)
- Mitchell, I. H. Inglis & H. Simpson: Arch. Dis Childh. 1976, 51: 707. (1, 30)
- Morag, A.B., B. Morag, J.M. Bernstein, K. Beutner & P.L. Ogra: J. Infect. Dis. 1975, 131: 409. (19)
- Ogra, P.L.: New Engl. J. Med. 1971, 284: 59. (26)
- Okumura, K. & T. Tada: J. Immunol. 1971, 107: 1682. (32)
- Pepys, M.B., C. Sategna-Guidetti, D.D. Mirjah, M.H. Wansbrough-Jones & A.C. Dash: Clin. exp. Immunol. 1976, 26: 91. (12)
- Pernis, B., L. Forni & L. Amante: J. exp. Med. 1970, 132: 1001. (10, 12)
- Polmar, S.H., T.A. Waldmann & W.D. Terry: Birth Defects: Orig. Art. Ser. 1975, 11: 147. (23)
- Preud'homme, J.L. & M. Seligmann: Blood 1972, 40: 777. (11)
- Robinson, L.D.: The Child with Recurrent Infections. Ped. Clin. N. Am. 1977, 40: 9. (1)
- Rynnel-Dagöö, B., E. Møller & E. Waterfield: Clin. exp. Immunol. 1977, 27: 425. (19)
- Saha, K., D.D. Kulpati & R. Padmini: Clin. Allergy 1975, 5: 339. (2, 33)
- Salvaggio, J.E., R.H. Waldman, M.H. Fruchtman, F.M. Wigley & J.E. Johnson: Clin. Allergy 1973, 3: 43. (29)
- Savilahti, E.: Clin. exp. Immunol. 1973, 13: 395. ((31)
- Schlegel, R.J., G.M. Bernier, J.A. Bellanti, D.A. Maybee, G.B. Osborne, J.L. Steward, D.S. Pearlman, J. Quelette & F.C. Biehuse: Pediatrics 1970, 45: 926. (33)
- Schmedtje, J.F. & A.F. Batts: Ann. Otol. (St. Louis) 1973, 82: 359. (19)
- Schoeph, E. & D. Boehringer: J. Derm. 1974, 1: 133. (10, 33)
- Siegler, D.E.M. & M. Citron: Thorax 1974, 29: 313. (29)
- Silveira, N.P.A., N.F. Mendes & M.E.A. Tolnai: J. Immunol. 1972, 108: 1456. (9)
- Spain, W.C. & R.A. Cooke: J. Immunol. 1924, 9: 521. (27)
- Steps, H.J.: Allergie u. Asthma 1967, 13: 180. (1)

- Stites, D.P., K. Ishizaka & H.H. Fudenberg: Birth Defects: Orig. Art. Ser. 1975, 11: 151. (23)
- Stocker, F., P. Ammann & E. Rossi: Arch. Dis. Childh. 1968, 43: 585. (31)
- Stokes, C.R., B. Taylor & M.W. Turner: Lancet 1974, II: 485. (29)
- Strannegård, I.-L., L.Å. Hanson, L. Lindholm, H. Mobacken & Ö. Strannegård: Lancet 1975, II: 702. (34)
- Strannegård, I.-L., L. Lindholm & Ö. Strannegård: Int. Arch. Allergy 1976, 50: 684. (33).
- Surjan, L. & M. Surjan: Z. Immunitätsforsch. 1969, 139: 43. (18)
- Surjan, M. & L. Surjan: Arch. klin. exp. Ohr.-, Nas. Kehlk. Heilk. 1970, 195: 331. (18)
- Surjan, M. & L. Surjan: Acta Otolaryng. (Stockh.) 1971, 71: 190. (18)
- Søltøft, J.: Scand. J. Gastroent. 1969, 4: 353. (4, 27)
- Søltøft, J. & B. Sjøberg: Acta path. microbiol. scand. Sect. B, 1972, 80: 379. (4)
- Tada, T. & K. Ishizaka: J. Immunol. 1970, 104: 377. (2, 3, 4, 5, 19, 26, 27, 30)
- Tada, T., K. Okumura & M. Taniguchi: J. Immunol. 1972, 108: 1535. (2)
- Tada, T.: Molecular and Biological Aspects of the Acute Allergic Reaction. Eds. Johansson, S.G.O, K. Strandberg & B. Uvnas. New York 1976, p. 79. (32)
- Tomasi, T.B. & S. Zigelbaum: J. clin. Invest. 1963, 42: 1552. (28)
- Tomasi, T.B. & H.M. Grey: Prog. Allergy 1972, 16: 81. (6, 28)
- Tourville, D.R., R.H. Adler, J. Bienenstock & T.B. Tomasi: J. exp. Med. 1969, 129: 411. (19, 26)
- Turk, D.C.: J. Hyg. Camb. 1963, 61: 247. (23)
- Turner, K.J., D.L. Rosman & J. O'Mahony: Int. Arch. Allergy 1974, 47: 650. (28)
- Veltri, R.W., P.M. Sprinkle, S.A. Keller & J.M. Chicklo: J. Laryng. 1972a, 86: 905. (21)

- Veltri, R.W., P.M. Sprinkle, S.A. Keller & J.M. Chicklo: J. Laryng. 1972b, 86: 893. (21)
- Virolainen, M., L.C. Andersson, M. Lalla & R. Von Essen: Clin. Immunol. Immunopath. 1973, 2: 114. (9)
- Walbraut, H.L., N.F. Mendes, C. Bianco & V. Nussenzweig: Nature (Lond.) 1971, 230: 531. (9)
- Waldman, R.H., M. Newman & R. Greenspan: J. Asth. Res. 1970, 7: 191. (26, 29)
- Waldmann, T.A., S.H. Polmar & S.T. Balestra: J. Immunol. 1972, 109: 304. (32)
- Waldmann, T.A., S. Broder, R.M. Blaese, M. Durm, M. Blackmann & W. Strober: Lancet 1974, II: 609. (12)
- Wanatabe, N.S., S. Kojima & Z. Ovary: J. exp. Med. 1976, 143: 833. (32)
- Weeke, B.: Scand. J. Clin. Lab. Invest. 1968a, 21: 351. (5)
- Weeke, E.: Scand. J. Clin. Lab. Invest. 1968b, 22: 107. (5)
- Williams, R.C. & R.J. Gibbons: Science 1972, 177: 697. (28)
- Winchester, R.J., S.M. Fu, T. Hoffman & H.G. Kunkel: J. Immunol. 1975, 114: 1210. (11)
- Winchester, R.J. & S.M. Fu: Scand. J. Immunol. 1976, suppl. 5, 5: 77. (12)
- Wybran, J. & H.H. Fudenberg: Birth Defects: Orig. Art. Ser. 1975, 11: 7. (9)
- Zucker-Franklin, D. & S. Berney: J. exp. Med. 1972, 135: 535. (18)
- Østergaard, P.Aa.: Acta path. microbiol. scand. Sect. C, 1975, 83: 406. (3, 4, 13, 20, 26)
- Østergaard, P.Aa.: Acta path. microbiol. scand. Sect. C, 1976, 84: 290. (6, 14, 15, 20, 21, 22, 23)
- Østergaard, P.Aa.: Acta path. microbiol. scand. Sect. C, 1977a, 85: 178. (6, 14, 15, 16, 21, 24)
- Østergaard, P.Aa.: Acta path. microbiol. scand. Sect. C, 1977b, 85: 187. (3, 4, 6, 13, 15, 29, 30, 31, 33)
- Østergaard, P.Aa.: Acta path. microbiol. scand. Sect. C, 1977c, 85: 454. (10, 12, 13, 16, 24, 25, 29, 30)

- Østergaard, P.Aa. & J. Eriksen: Acta path. microbiol. scand. Sect. C, 1977, 85: 395. (10, 12)
- Østergaard, P.Aa. & M. Blom: J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 1977, 15: 395. (5, 8)
- Østergaard, P.Aa. & M. Blom: Ugeskr. Læg. 1978, 140: 967. (6)
- "Özek, Ö., S. Egilmez, Ö. Ang & I. Savas: Acta Otolaryng. (Stockh.) 1967, 63: 455. (1, 23, 24)

